



# **ESTUDO DO IMPACTO DE STRESS ABIÓTICO CONTROLADO NA COMPONENTE BIOACTIVA DE POLPAS DE MAÇÃ**

**Sandra Ferreira Balbi**

**Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
Engenharia Alimentar**

Orientador: Doutora Margarida Gomes Moldão Martins

Co-orientador: Doutor António Eduardo Baptista Leitão

**Juri:**

Presidente: Doutor Bernardo Manuel Teles de Sousa Pacheco de Carvalho, Professor Associado do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Vogais: Doutora Margarida Gomes Moldão Martins, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Doutor António Eduardo Baptista Leitão, Investigador Auxiliar do Instituto de Investigação Científica Tropical

Engenheira Marta Maria Moniz Nogueira de Abreu, Assistente de Investigação do Instituto Nacional de Engenharia, Tecnologia e Inovação, I.P., na qualidade de especialista

Lisboa, 2009

---

## Agradecimentos

---

Na realização deste trabalho tive a sorte de possuir o apoio de muitas pessoas que fazem parte da minha vida. Sem elas não teria sido possível chegar a esta etapa. Quero assim deixar uma palavra de sincero agradecimento:

À Prof. Dr<sup>a</sup> Margarida Moldão Martins e ao Engenheiro Eduardo Leitão por todo o apoio prestado, toda a atenção e paciência dispensadas e por toda a amizade ao longo destes meses.

À Engenheira Sara Beirão da Costa, à Rosarinho, à Marília e à D. Graziela por todos os conselhos e ajuda preciosos e a todo o pessoal do DAIAT.

Às minhas grandes amigas e companheiras de trabalho Diana Fernandes, Cláudia Belchior, Mariana Pereira, Joana Carvalho e Marisa Bairinhas, que tanto me apoiaram incondicionalmente ao longo de todo este percurso e que tornaram ainda mais agradável a realização deste trabalho.

Ao Tiago Venceslau e Soraia Freire pelo apoio técnico e amizade.

Aos meus grandes amigos Filipa Calixto, Madalena Calixto, Joana Pereira, Diana Vicente, Davide Duarte e Sara Vieira por toda a ajuda, carinho e amizade dispensados ao longo de muitos anos.

Aos meus amigos e amigas de Almeirim que sempre me apoiaram e estiveram lá durante tantos anos.

E principalmente à minha família, Mãe, Mano Marco, Avó e Avô, pois sempre foram um grande pilar na minha vida, que me fizeram tornar a pessoa que sou hoje e que possibilitaram a minha chegada até aqui.

Um muito obrigado a todos!

---

## Resumo

---

O objectivo deste estudo foi o desenvolvimento de polpas de base maçã, com uma componente bioactiva aumentada pela incorporação de amora e farelo de trigo e pela aplicação de tratamentos térmicos moderados (TTM) à maçã inteira. O escurecimento, principal causa de perda de qualidade de polpas de maçã, foi controlado pela inactivação enzimática pelo calor durante a trituração (branqueamento) e pela introdução de limão na formulação inicial e de ananás (3%) (bromelinas com actividade proteolítica) nas polpas a 40°C. Como processo de conservação utilizou-se a congelação a -18°C. A formulação base das polpas foi efectuada segundo um delineamento estatístico composto central rotacional. Com base nas variáveis dependentes estudadas concluiu-se que a formulação de base maçã deverá ser adicionada de: 1,5 % farelo, 5 % limão, 3 % amora e 3 % ananás. Foram testados binómios tempo / temperatura de TTM bem como o tempo que medeia entre o TTM e o processamento. Tratamentos de 50 °C durante 5 minutos efectuados 24 h antes do processamento implicaram maior síntese de fenóis. O binómio tempo/temperatura de branqueamento mais adequado, tendo por base a estabilização da cor e a manutenção do gosto de fruta fresca foi 80 °C durante 2 minutos.

**Palavras-Chave:** Polpas de fruta, Compostos bioactivos, Stress abiótico controlado, Escurecimento enzimático, Desenvolvimento de novos produtos

---

## Abstract

---

The purpose of this study was to develop an apple pulp with a bioactive component increased by the addition of blueberry and wheat bran, and the application of moderate heat treatment (MHT) to the whole apple. The browning, the leading cause of loss of quality of the apple pulp, was controlled by enzymatic inactivation by heat during grinding (bleaching) and the introduction of lemon in the initial formulation as well as pineapple (3%) (bromelaíns with proteolytic activity) in the pulp at 40°C. The conservation process used was freezing at -18 °C. The base formulation on the pulp was conducted in a central composite rotational delineation. Based on the dependent variables studied, it was found that to the formulation of pulp based apple should be added 1.5% wheat bran, 5% lime and 3% of blackberry. Both the time and temperature were tested of MHT as well as the time between the MHT and processing. A treatment of 50 °C for 5 minutes performed for 24 h before processing involved a greater synthesis of phenols. The appropriate duality of time and temperature of bleaching based on the color and maintenance of the taste of fresh fruit was 80 °C for 2 minutes.

**Keywords:** Fruit pulps, Bioactive compounds, Abiotic controlled stress, Enzymatic browning, Development of new products

---

## Extended Abstract

---

Apple is one of the most produced fruits in the present time, due to more intensive production methods that begun to be applied. Therefore, it appears the need of transform it in a more attractive product for the consumers. The fruits unmarketable for fresh, surplus or those that don't present consistent characteristics with their form of marketing are used to prepare new products. Furthermore, the consumers have shown a growing concern with health and the search for healthier products has a large increase.

The main concern is the development of a product that keeps the majority of chemical and physical properties of his raw material. In the present study, a development was made of apple pulps with a bioactive component increased by the addition of blueberry and wheat bran, and the application of moderate heat treatment (MHT) to the whole apple. The most important cause of loss of quality of the apple pulp is the browning, and it was controlled by enzymatic inactivation by heat during grinding (bleaching) and the introduction of lemon in the initial formulation as well as pineapple (3%) (bromelains with proteolytic activity) in the pulp at 40 °C. The wheat bran is the major source of fiber for the pulps. As conservation process, freezing at -18 °C was used.

For this purpose, this study was developed in different phases. First a design leading to the basis formulation was made, based on the dependent variables studied (sensorial acidity, apple taste, sensorial colour of pulp, sweetness, pH and total phenols). Thus, a large number of formulations were prepared with different combinations of each ingredient. The optimization of the process variables was carried out by the statistical design central composite rotatable based on response surface methodology, using the "Statistica" v. 6.1 software from Statsoft, Inc.. In the second phase the studies relating to physical treatments were made. The physical treatments consisted of a moderated heat treatment to increase the content of bioactive compounds, and a bleaching treatment to inactivate the enzymes responsible for the enzymatic browning. The main problem is to conjugate these treatments in the correct time, in order to firstly increase the content of bioactive compounds and then to prevent the enzymatic browning.

In order to analyze the results of these chemical determinations, line charts were made with standard error bars and its evolutions over time were evaluated. To analyze the CIELab color, the parameters  $L^*$ ,  $c^*$  e  $h^0$  were subjected to ANOVA / MANOVA, Fisher's test in the software STATISTICA 6.1.

Sensorial tests were carried out in the sensory laboratory of the Department of Agro-industries and Tropical Agronomy of Instituto Superior de Agronomia. Resorted to a semi-

trained panel of 10 tasters aged between 22 and 66 years old. It was asked to each panelist to evaluate the acidity parameters, overall color, color of red fruits, apple taste, candy, sanded, global assessment and purchase intent, in a structured scale. In each session were presented 4 samples. The sensory parameters were estimated using a spider chart type and were submitted to ANOVA / MANOVA, Fisher's test in the software STATISTICA 6.1, except in the first phase in which results were analyzed in central composite rotatable based response methodology surface.

Then, the pulp development was made with different physical treatments, followed by a phase of readjustments on the binomial time-temperature of bleaching.

On the design leading to the formulation, a final formulation of the apple pulp was reached containing 1.5 % of wheat bran, 5 % of lemon and 3 % of blackberry. Then 3 % of pineapple was added to enhance the protective effect on enzymatic browning of the bromelain.

For the study of physical treatments, the most appropriate binomial for moderate heat treatment was 50 °C for 5 minutes, and for bleaching, the best alternative was 80 °C for 2 minutes. This combinations lead to a little increase in total phenols and to a whiter color of the pulps.

**Keywords:** Fruit pulps, Bioactive compounds, Abiotic controlled stress, Enzymatic browning, Development of new products

---

# Índice

---

Agradecimentos .....	I
Resumo.....	II
Abstract.....	III
Extended Abstract .....	IV
Índice .....	VI
Lista de Quadros.....	IX
Lista de Figuras.....	X
Parte I – Revisão Bibliográfica.....	1
1    Introdução .....	1
2    Maçã .....	2
2.1    Produtos Derivados de Maçã .....	3
2.2    Escurecimento Enzimático .....	4
2.3    Metodologias utilizadas para prevenir o escurecimento enzimático.....	5
3    Compostos Bioactivos.....	7
3.1    Compostos Fenólicos.....	7
3.2    Ácido Ascórbico .....	9
3.3    Carotenóides.....	10
3.4    Fibra.....	11
4    Tratamentos de Stress Abiótico Controlado .....	14
4.1    Implicação na Síntese de Compostos Bioactivos .....	14
4.2    Implicação na Prevenção do Escurecimento Enzimático.....	15
5    Desenvolvimento de Novos Produtos.....	17
Parte II - Desenvolvimento Experimental.....	19
6    Delineamento Conducente à Formulação .....	20
6.1    Materiais .....	21
6.2    Métodos .....	21
6.2.1    Processamento das Polpas.....	21
6.2.2    Determinações Químicas .....	21

6.2.3	Determinação da Cor CIELab .....	23
6.2.4	Análise Sensorial .....	23
6.3	Apresentação e Discussão dos Resultados .....	24
6.3.1	Acidez Sensorial .....	24
6.3.2	Gosto a Maçã.....	25
6.3.3	Cor Sensorial da Polpa .....	27
6.3.4	Sabor Doce.....	28
6.3.5	pH .....	29
6.3.6	Teor de Fenóis Totais .....	30
6.3.7	Análise Conjunta dos Resultados.....	31
6.3.8	Influência do Farelo na Componente da Fibra, Cinza e Composição Mineral..	32
6.4	Considerações Intercalares.....	34
7	Estudos Relativos aos Tratamentos Físicos .....	35
7.1	Tratamentos Térmicos Moderados.....	35
7.1.1	Materiais e Métodos .....	35
7.1.2	Apresentação e Discussão dos Resultados .....	36
7.2	Branqueamento.....	37
7.2.1	Materiais e Métodos .....	38
7.2.2	Apresentação e Discussão dos Resultados .....	39
7.3	Considerações Intercalares.....	39
8	Desenvolvimento das Polpas com Integração de Tratamentos Físicos .....	40
8.1	Materiais e Métodos .....	40
8.1.1	Processamento das Polpas.....	40
8.1.2	Determinações Químicas: .....	41
8.1.3	Determinação da Cor CIELab: .....	41
8.1.4	Análise Sensorial: .....	42
8.2	Apresentação e Discussão dos Resultados .....	42
8.2.1	Determinações Químicas .....	42
8.2.2	Determinação da cor CIELab .....	47
8.2.3	Análise Sensorial .....	48



8.3	Considerações Intercalares.....	50
8.4	Reajuste do binómio Tempo/Temperatura de Branqueamento .....	51
8.4.1	Apresentação e Discussão dos Resultados .....	51
8.4.2	Considerações Intercalares.....	54
9	Conclusões e Perspectivas Futuras .....	55
10	Bibliografia.....	57
11	Cibergrafia .....	61

Anexos

---

## Lista de Quadros

---

Quadro 1 – Teor em fibra alimentar da maçã, limão, farelo de trigo e ananás.....	12
Quadro 2- Concentrações mais favoráveis para as diferentes variáveis independentes em função das variáveis dependentes .....	31
Quadro 3 - Valores médios e erro padrão para os parâmetros da cor em polpas de maçã produzidas com frutos submetidos a diferentes TTM's. ....	37
Quadro 4 – Resultados observados para as polpas tratadas com diferentes binómios (T/t) de branqueamento. ....	39
Quadro 5 – Condições de processamento de polpas de base maçã. ....	40

---

## Lista de Figuras

---

Figura 1 – Evolução da Produção Nacional de Maçã .....	2
Figura 2 – Resposta metabólica dos tecidos vegetais aos danos celulares.....	5
Figura 3 – Grupo de Flavonóides .....	8
Figura 4 – Reacção de Oxidação Redução do Ácido Ascórbico .....	9
Figura 5 – Absorção de Carotenóides no Organismo. ....	11
Figura 6- Esquema representativo da utilização do stress abiótico controlado no aumento do teor de compostos bioactivos e no acréscimo de valor a frutos e vegetais. ....	15
Figura 7- Esquema ilustrativo do metabolismo dos compostos fenólicos .....	15
Figura 8 - Superfície de resposta da acidez sensorial (AS) das polpas de maçã em função das variáveis independentes teores de limão e de amora (base seca).....	25
Figura 9- Superfícies de resposta da variável gosto das polpas de maçã (G) em função das variáveis independentes teores de limão e de farelo (a), teores de limão e de amora (b) e teores de farelo e de amora (c).(base seca).....	26
Figura 10- Superfície de resposta da variável cor sensorial da polpa de maçã (CS) em função das variáveis independentes teores de limão e de farelo(a) e teores de limão e de amora (b).(base seca) .....	27
Figura 11- Superfícies de resposta da variável sabor doce das polpas de maçã (SD) em função das variáveis independentes teores de limão e amora (a) e teores de farelo e amora (b). (base seca) .....	28
Figura 12- Superfícies de resposta da variável pH das polpas de maçã (pH) em função das variáveis independentes teores de limão e de amora (a) e teores de limão e de farelo (b).(base seca) .....	29
Figura 13- Superfícies de resposta da variável teor fenóis totais das polpas de maçã (FT) em função das variáveis independentes teores de limão e de amora (a) e teores de farelo e de limão (b). (base seca) .....	30
Figura 14 – Teores de fibra insolúvel, hemicelulose e celulose em base seca (BS) das amostras de polpa com e sem adição de farelo de trigo. (barras de erro com percentagem de 5 %).....	32
Figura 15 - Teor de cinza da polpa de fruta com e sem adição de farelo.....	33
Figura 16- Teor de cálcio, magnésio, potássio e ferro da polpa de fruta com e sem adição de farelo. ....	33
Figura 17 – Teor de Fenóis Totais de polpas de maçã produzidas com frutos submetidos a diferentes TTM's. (barras de erro com percentagem de 5 %) .....	36
Figura 18- Codificação das amostras analisadas. ....	41

Figura 19 – Valores de pH de polpa de base maçã ao longo dos 36 dias de conservação a -18°C. (barras de erro com erro padrão).....	42
Figura 20- Valores do Teor de Sólidos Solúveis de polpa de base maçã ao longo do tempo de congelação a -18°C. (barras de erro com erro padrão).....	43
Figura 21- Evolução do teor de humidade de polpa de base de maçã com o tempo de conservação a -18 °C. (barras de erro com percentagem de 5 %) .....	43
Figura 22 - Evolução da Actividade de água com o tempo de conservação. (barras de erro com erro padrão).....	44
Figura 23 - Evolução do teor de fenóis totais com o tempo de conservação. (barras de erro com percentagem de 5 %) .....	45
Figura 24- Evolução do teor de ácido ascórbico com o tempo de conservação. (barras de erro com percentagem de 5 %) .....	46
Figura 25 - Evolução dos parâmetros L*, c* e h° da cor com o tempo de congelação. ....	47
Figura 26- Pontuações atribuídas pelos provadores relativamente aos parâmetros Cor da Polpa (a), Cor a Frutos Vermelhos (b), Gosto a Maçã (c), Doce (d), Acidez (e) e Apreciação Global (f) ao longo do tempo de congelação. ....	48
Figura 27 – Evolução do parâmetro L* ao longo do tempo para as amostras M1, M2 e Amostra de Controlo. ....	52
Figura 28 – Evolução do parâmetro c* ao longo do tempo para as amostras M1, M2 e Amostra de Controlo. ....	52
Figura 29 – Evolução do parâmetro h° ao longo do tempo para as amostras M1, M2 e Amostra de Controlo. ....	53

---

## Parte I – Revisão Bibliográfica

---

---

### 1 Introdução

---

O consumo de produtos hortofrutícolas tem uma importância crescente para o consumidor, que tem vindo a tomar uma maior consciência dos seus benefícios. A procura destes produtos tem vindo a crescer no sentido de encontrar os meios mais práticos e rápidos de os consumir. É neste contexto que surge a tentativa de transformar os produtos hortofrutícolas em produtos derivados, prontos a consumir. A investigação deve-se focar em encontrar meios de produzir estes produtos derivados, mantendo o mais possível as características físicas, químicas e sensoriais da matéria-prima que lhes dá origem.

Os frutos a que mais frequentemente se recorre para produzir este tipo de produtos são frutos de qualidade, mas com características que os tornam menos próprios para a sua comercialização em fresco. São então utilizados frutos que não atingem dimensões, cor, aspecto e/ou uniformidade pretendidas comercialmente.

O objectivo do presente estudo foi produzir polpas de fruta enriquecidas em fibra pela adição de farelo de trigo, com uma forte componente bioactiva, induzida pela aplicação de pré-tratamentos de stress abiótico controlado e pela incorporação de pequenos frutos e estabilizadas, sem adição de compostos químicos.

Sendo a maçã um fruto produzido em larga escala, utilizou-se este fruto como base de composição das polpas. À maçã foi adicionado amora, que além de enriquecer em compostos bioactivos, atribui uma cor que poderá minimizar o impacto do processamento, limão que contribui para a diminuição do pH, ananás que potencia o efeito protector da bromelaína no que respeita ao escurecimento e farelo de trigo que contribui para enriquecer as polpas na componente de fibra.

Partiu-se do princípio que os perigos microbiológicos estão controlados pela natureza do tipo de tratamento térmico a que se recorreu (branqueamento). O principal interesse do estudo, foi desenvolver polpas de fruta estáveis, saudáveis e capazes de agradar a um grande número de consumidores de modo a terem uma boa aceitação no mercado.

---

## 2 Maçã

---

A maçã usualmente cultivada é um híbrido interespecífico complexo, denominado *Malus x domestica* (Luby, 2003).

A produção de maçã no mundo teve um aumento gradual desde a segunda guerra mundial. Este aumento deveu-se principalmente aos métodos de produção mais intensivos, que levaram a uma redução do número de pomares, mas ao aumento das suas áreas e consequentemente ao aumento da produção (O'Rourke, 2003).

Em 2004 e 2005, a produção mundial de maçã rondou as 63 205 385 e 63 488 907 t, respectivamente e a área de produção foi de 5 062 184 e 5 218 126 ha (GPP-Gabinete de Planeamentos e Projectos, 2007).

Segundo dados de 2005-2006 (GPP), a China é o maior produtor mundial de maçã, com uma representatividade de 39%, seguida dos Estados Unidos com 7% e da Turquia e do Irão com 4%. A União Europeia na sua totalidade detém apenas 19% de peso na produção mundial.

Na União Europeia os maiores produtores entre 2001 e 2005 foram por ordem de importância a Polónia, seguida da França e da Itália. A UE teve uma produção de 11 milhões de toneladas no período referido. Portugal, neste contexto possui apenas 3,6% da produção, no entanto, se for considerada a Europa com os 25 estados membros, este peso diminui para 2,5%.

Relativamente à produção nacional de maçã, pode-se observar na Figura 1 a sua evolução de 2001 a 2005.

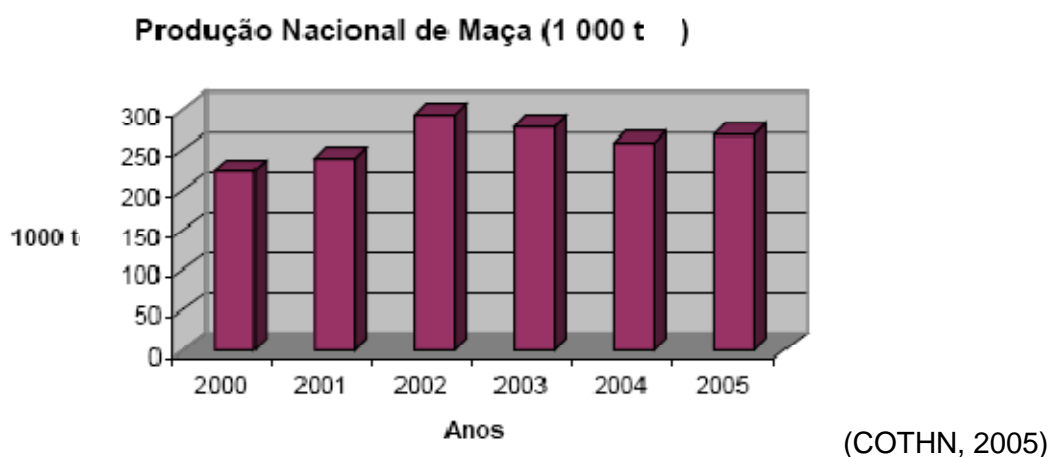


Figura 1 – Evolução da Produção Nacional de Maçã

O relatório do GPP do Ministério da Agricultura revela que a maçã é o fruto fresco com maior relevância na produção do continente, possuindo um peso de 26,5 % do volume total (Anexo 1).

As variedades mais produzidas são Golden Delicious, Red Delicious, Starking, Royal Gala, Jonagold, Jonagored, Osarkgold, Reineta Parda, Reineta Branca, Riscadinha de Palmela, Casa Nova, Granny Smith, Bravo de Esmolfe, Fuji e Pink Lady (GPP, 2006).

As zonas do Ribatejo e Oeste, Trás-os-Montes, Beira Litoral e Beira Interior no período de 2001-2005 lideraram a produção nacional de maçã, tendo um peso de 40, 30 e 13 % respectivamente (GPP, 2006).

## **2.1 Produtos Derivados de Maçã**

---

O principal mercado da maçã produzida é o consumo em fresco. Em países com menor desenvolvimento tecnológico, os frutos que não são comercializáveis têm como destino a alimentação animal ou o desperdício (O'Rourke, 2003). Em países com maior avanço tecnológico, foram-se desenvolvendo opções para os frutos não comercializáveis em fresco, ou por excedentários, ou por não apresentarem características compatíveis com esta forma de comercialização. Surge assim, um mercado considerável para produtos derivados da maçã, como sumos, concentrados, molhos, recheios para tartes, compotas, sidra, maçã desidratada, maçã fatiada pronta a consumir, entre muitos outros.

A transformação das matérias-primas em produtos prontos a consumir, é uma forma de acrescentar valor aos produtos. O consumidor valoriza mais um produto preparado pronto a consumir, que lhe permita desfrutar das vantagens da matéria-prima de um modo mais simples e prático.

No entanto, a transformação da matéria-prima em produtos derivados nem sempre é fácil. Como produto perecível e extremamente susceptível à oxidação depois de processado, a maçã é um fruto difícil de processar mantendo as características que a caracterizam em fresco.

## 2.2 Escurecimento Enzimático

---

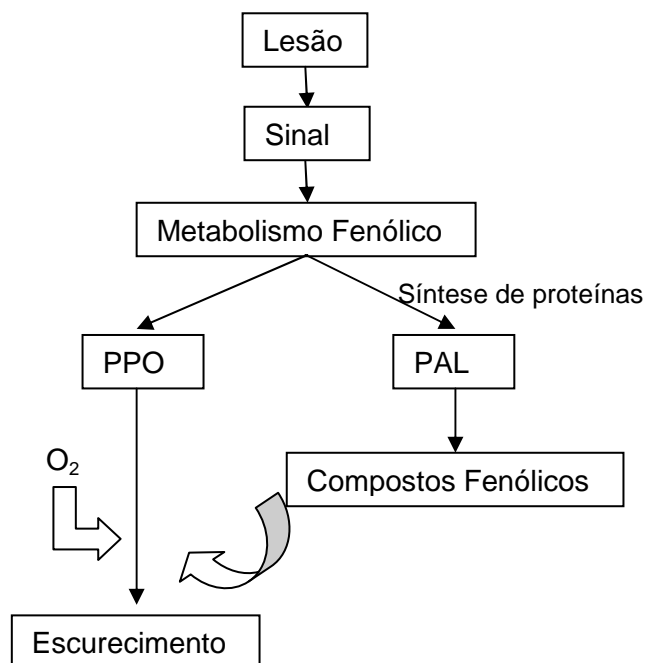
As reacções de escurecimento são uma grande preocupação da indústria alimentar. Estas reacções causam transformações nos alimentos que levam à alteração de compostos do aroma, do sabor e principalmente da cor, que podem implicar rejeição por parte do consumidor.

É um desafio da indústria alimentar impedir ou retardar estas reacções com metodologias seguras para o consumidor, por forma a tornar os produtos atractivos e economicamente viáveis. Existem dois tipos de reacções que provocam o escurecimento nos alimentos, no entanto nos produtos hortofrutícolas, as mais relevantes são as de carácter enzimático.

O escurecimento enzimático na maçã é muito acentuado devido à grande quantidade de compostos fenólicos presentes neste fruto. A principal enzima envolvida nas reacções de escurecimento é a polifenoloxidase (PPO), embora a enzima peroxidase (POD) também interfira no processo (Dogan & Dogan, 2004). A PPO que se encontra nos plastídeos, utiliza os compostos fenólicos que se encontram nos vacúolos como substrato (Vaughn et al., 1988), quando ocorre destruição celular devido ao corte ou abrasão dos tecidos vegetais. Após a destruição da integridade celular, ocorre uma hidroxilação enzimática com formação de orto-difenóis incolores. Posteriormente, os orto-difenóis sofrem oxidações enzimáticas com formação de orto-quinonas, podendo estas ser incolores ou coradas. As orto-quinonas, são compostos muito reactivos e sofrem oxidação não enzimática, que origina polímeros acastanhados, provocando um escurecimento dos tecidos.

Acresce ainda que, quando ocorre destruição celular, a síntese das enzimas do metabolismo fenilpropanoide é induzida (Ke & Saltveit, 1989). As células danificadas emitem um sinal às células adjacentes, induzindo uma cadeia de respostas e alterando o metabolismo fenólico. Ocorre a produção induzida de proteínas, algumas das quais são enzimas como a enzima fenilalanina amónia liase (PAL). Esta enzima específica, aumenta bruscamente a sua actividade, havendo um acréscimo de fenóis solúveis nos tecidos. A actividade da PPO e da POD também aumenta contribuindo ainda mais para o escurecimento (Figura 2) (Saltveit, 2000).





(Fonte: adaptado de Saltveit, 2000)

FIGURA 2 – Resposta metabólica dos tecidos vegetais aos danos celulares

As enzimas são responsáveis, não só pelo escurecimento dos vegetais, mas também por outras reacções oxidativas, como a degradação de clorofila e auxinas, oxidação do ácido acético, biossíntese de lenhina, entre outras que influenciam o aroma, a textura, a cor e a composição nutricional dos produtos.

## 2.3 Metodologias utilizadas para prevenir o escurecimento enzimático

São várias as barreiras passíveis de utilizar, com vista à prevenção do escurecimento enzimático no processamento de frutos.

Os tecidos vegetais reagem a qualquer alteração das suas condições normais de crescimento (stress), seja uma alteração de temperatura, uma lesão, um aumento ou diminuição da disponibilidade de oxigénio, entre outras. Sendo assim, a resposta dos tecidos vegetais a um stress como uma lesão pode ser diminuída pela aplicação de outro stress como o choque térmico (Saltveit, 2000)

Segundo Tomás-Barberán, *et al.* (1997), um curto choque térmico (90 s a 45 °C) é suficiente para diminuir a produção induzida da PAL, diminuindo assim a sua actividade e consequente acumulação de compostos fenólicos e escurecimento dos tecidos vegetais.

No entanto, um ligeiro stress térmico, não é eficaz em tecidos vegetais que já possuam elevados níveis de compostos fenólicos e grande actividade de enzimas fenilpropanóides. O stress térmico, utilizado na diminuição da actividade da PAL, não é eficaz na destruição da actividade das enzimas responsáveis pelo escurecimento enzimático, que já estão presentes no tecido (Saltveit, 2000).

Assim, em frutos como a maçã, surge a necessidade de utilizar barreiras de inactivação enzimática ou de bloqueio das respectivas reacções. Quando o objectivo é produzir sem recurso a aditivos químicos, a opção pode passar pela inactivação enzimática, utilizando o processo de branqueamento. Ao sofrerem inactivação, as enzimas perdem a capacidade de utilizarem os compostos fenólicos para formarem polímeros acastanhados.

O branqueamento é frequentemente realizado por choque térmico, sendo utilizada como índice de um branqueamento adequado, a enzima oxidativa mais termorresistente, a peroxidase (POD) (Ramaswamy, *et al.*, 2002).

Também o recurso a produtos como o limão e ananás se torna bastante útil quando não se pretende recorrer a aditivos químicos de síntese. O limão vai provocar uma descida de pH, que se torna útil na inactivação das enzimas responsáveis pelo escurecimento. O ananás tem presente na sua constituição uma enzima proteolítica, denominada bromelaína, que poderá actuar sobre as enzimas responsáveis pelo escurecimento, provocando a sua proteólise.

---

## 3 Compostos Bioativos

---

Numa sociedade em que a preocupação com a saúde assume cada vez uma maior importância, torna-se essencial o desenvolvimento de produtos ricos em compostos, que além de beneficiarem a saúde humana, apresentem a capacidade de prevenir o aparecimento de certas doenças como o cancro e as doenças cardiovasculares. Estes compostos, designam-se geralmente por compostos bioactivos ou fitoquímicos e estão largamente presentes nos produtos vegetais, nomeadamente em frutos, na forma de compostos fenólicos, ácido ascórbico, carotenóides, tocoferóis, compostos nitrogenados, entre outros.

Segundo a EuroFIR (European Food Information Resource Network), compostos bioactivos são constituintes não nutritivos inerentes aos produtos vegetais, que antecipam a promoção da saúde e apresentam efeitos benéficos quando ingeridos (Gry, *et al.*, 2007).

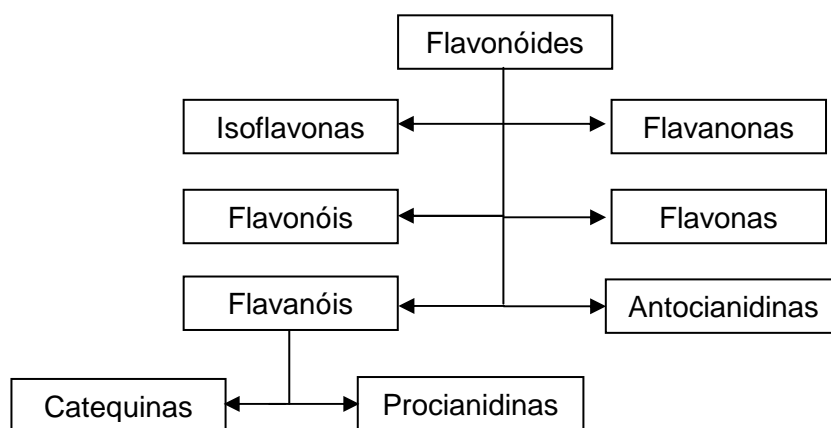
Os compostos bioactivos inibem a acção dos radicais livres e a oxidação das LDL, funcionam como agentes bloqueadores, supressores e indutores da reparação do DNA no processo de carcinogénese e contribuem para a vasodilatação e para a diminuição da agregação de plaquetas e processo inflamatório (Feliciano, sd)

Nas plantas estes compostos têm várias funções, como atrair insectos polinizadores, proteger de doenças ou de serem ingeridas por herbívoros, proteger da luz UV (Denny & Buttriss, 2007).

### 3.1 Compostos Fenólicos

---

Os compostos fenólicos são metabolitos secundários, presentes nos alimentos vegetais, que se dividem em flavonóides e não flavonóides (Burns, *et al.*, 2001). Designam-se flavonóides todos os compostos que possuem a estrutura flavona ou uma forma hidrogenada dessa estrutura (Campos, 2002). As suas propriedades químicas e bioquímicas dependem da respectiva estrutura química e possuem o grupo fenol como elemento comum a todo este grupo de compostos. A Figura 3 mostra a variedade de flavonóides conhecida.



(Adaptado de Denny & Buttriss, 2007)

Figura 3 – Grupo de Flavonóides

Nos frutos encontram-se predominantemente antocianidinas, flavonóis, flavanóis, catequinas, e procianidinas. Nos tecidos vegetais, a maioria das antocianidinas e flavonóis ocorrem na forma de glicósidos (uma unidade de flavonóide e pelo menos um monossacárido) (Skrede *et al.*, 2002). Os compostos não flavonóides são os ácidos fenólicos. Deste grupo fazem parte os ácidos benzóicos como o ácido gálico, que possuem sete átomos de carbono e são os ácidos fenólicos mais simples, os ácidos cinâmicos como o ácido p-cumárico, que possuem nove átomos de carbono e as cumarinas que são derivados do ácido cinâmico. Os ácidos fenólicos possuem na sua estrutura química um anel benzénico, um grupo carboxílico e um ou mais grupos hidroxilo ou metoxilo (Soares, 2002).

Na maçã, os flavonóides que se encontram em maior quantidade são os flavonóis, os flavanóis, a florizina (polifenol característico da maçã) e as antocianinas, e o ácido fenólico mais abundante é o ácido clorogénico (Awad *et al.*, 2000). No entanto, a quantidade de cada um destes compostos, assim como a sua distribuição depende de factores como a disponibilidade de nutrientes, radiação solar e temperatura e depende também do estado de maturação da fruta e do seu contexto genético (Saure, 1990; Treutter, 2001). Muitas das enzimas responsáveis pela síntese de flavonóides são induzidas pela exposição à luz (Treutter, 2001).

Os principais pigmentos responsáveis pela coloração avermelhada da casca das maçãs são as antocianinas, sendo a cianidina 3-galactosidase a mais abundante (Mazza & Miniati, 1993).

É possível encontrar concentrações de fenóis totais entre 1000 e 6000 mg/kg de peso fresco, para a maioria das variedades de maçã (Sanoner *et al.*, 1999).

O farelo de trigo possui uma vasta composição em flavonóides que podem variar entre 149,1 a 405,7 mg/kg, dependendo da variedade (Feng and McDonald, 1989).

As amoras possuem na sua composição ácidos fenólicos, tais como o ácido gálico, cafeíco, ferrúlico, p-cumárico e elágico (o mais abundante). Relativamente à concentração de antocianinas, varia entre 1165,9 e 1528 mg/kg de peso fresco expressas em equivalentes de cianidina 3-glucosido (Sellapan *et al.*, 2002)

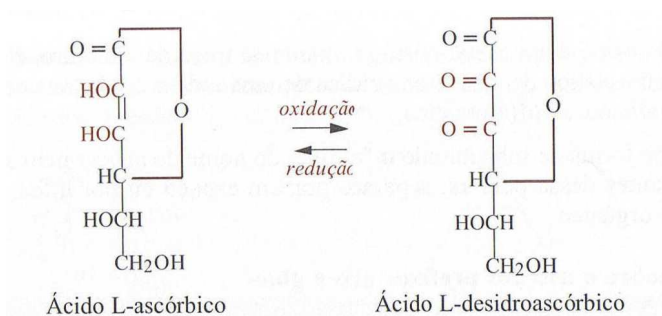
A composição fenólica inicial da matéria-prima geralmente modifica-se devido aos fenómenos de oxidação decorrentes do processamento e armazenamento do produto final (Amiot *et al.*, 1997).

Alguns destes compostos conferem um carácter amargo e adstringente aos alimentos e desempenham um papel importante na qualidade organoléptica dos mesmos. Os polifenóis interagem directamente com os derivados tóxicos do oxigénio e com os metais quelantes de transição, inibindo assim a peroxidação lipídica nos alimentos, mostrando-se mais eficazes que o  $\alpha$ -tocoferol (Coxam *et al.*, 2008).

### 3.2 Ácido Ascórbico

O ácido ascórbico mostrou ser a primeira linha de defesa contra os radicais livres hidrossolúveis, na medida em que desactiva os radicais superóxido e hidróxilo do singlete de oxigénio. Permite também a regeneração da actividade antioxidante da vitamina E nos sistemas celulares e é indispensável à formação do tecido conjuntivo e do sistema imunitário. Em contacto com o ar oxida-se facilmente e revela-se bastante solúvel em água (Coxam *et al.*, 2008).

Na sua estrutura química existe uma dupla ligação entre dois átomos de carbono, em que cada um deles possui um oxidrilo. Este composto oxida-se facilmente em ácido desidroascórbico, sendo esta reacção reversível o que lhe permite a participação em processos de oxirredução (Campos, 2002).



(FONTE: Campos, 2002)

FIGURA 4 – Reacção de Oxidação Redução do Ácido Ascórbico

O ácido ascórbico, apesar de ser um agente antioxidante quando se encontra em concentrações elevadas, pode também actuar como agente pro-oxidante quando a sua concentração é menor e estão presentes iões de cobre (Allen *et al.*, 1985).

### 3.3 Carotenóides

---

Os carotenóides são pigmentos que estão naturalmente presentes nos alimentos e que os animais não conseguem biossintetizar, tendo de ser ingeridos através dos alimentos (Méndez & Mosquera, 2007). São conhecidos mais de 650 carotenóides, no entanto a maioria encontra-se em concentrações muito baixas, tendo por isso pouca importância a nível nutricional. Um dos carotenóides mais conhecidos é o  $\beta$ -caroteno, precursor da vitamina A, na medida em que a acção de enzimas na mucosa intestinal converte o  $\beta$ -caroteno nesta vitamina (Johnson, 2001).

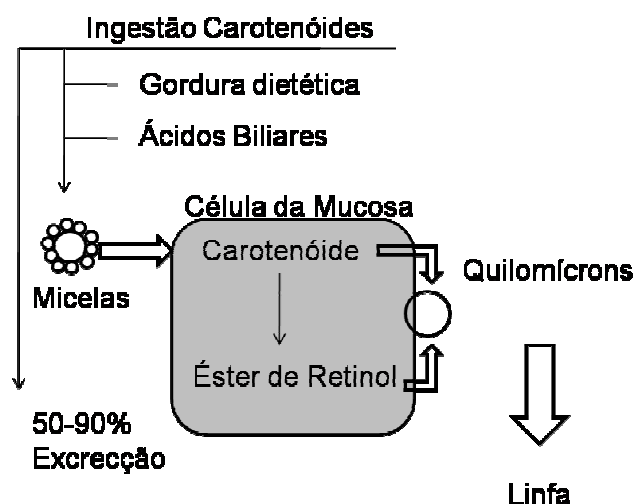
Quimicamente classificam-se como tetra-terpenos, o seu esqueleto carbonado é formado devido à adição de unidades em  $C_5$  que formam geranyl-geranylpirofosfato e a junção de duas moléculas forma a estrutura em  $C_{40}$  (Campos, 2002).

São sintetizados e armazenados no aparelho fotossintético das plantas superiores e estão envolvidos no sistema absorvedor de luz e na defesa antioxidante contra a fotoxidação (Demming-Adams, *et al.*, 1996).

Nos tecidos vegetais intactos, a sua associação a proteínas, membranas e outros componentes, tornam os carotenóides bastante estáveis e protegidos e mesmo durante a maturação dos frutos normalmente as perdas e alterações ocorrem muito lentamente. No entanto, aquando da ruptura dos tecidos, ocorre destruição dos carotenóides pela acção de lipoxigenases e outros processos de oxidação (Britton & Méndez, 1997).

Durante o processo de congelação, se não existir oxigénio, os carotenóides mantêm-se estáveis, no entanto se não existir uma eficiente remoção do oxigénio, poderão ocorrer perdas significativas (Britton & Méndez, 1997).

Os carotenóides geralmente apresentam boa resistência aos processos de aquecimento e podem mesmo facilitar a sua biodisponibilidade, pois facilitam a incorporação em micelas prontas para serem absorvidas pelo organismo (Méndez & Mosquera, 2007). Os carotenóides são absorvidos pela via linfática e por isso requerem a formação de micelas de gordura e ácidos biliares (Stahl & Sies, 1999) (Figura 5).



(Fonte: adaptado de Stahl & Sies, 1999)

Figura 5 – Absorção de Carotenóides no Organismo.

A sua biodisponibilidade depende em grande parte da matriz alimentar onde se encontra.

Além de precursores da vitamina A, os carotenóides possuem um papel importante na prevenção de alguns tipos de cancro, principalmente na prevenção do cancro do pulmão (Coxam et al., 2008).

Na maçã, estes compostos estão presentes em maior quantidade na casca, e em quantidades reduzidas na polpa, dependendo a sua concentração da variedade em causa (Almeida & Pintado, 2007).

### 3.4 Fibra

Segundo a comissão do Codex Alimentarius (FAO, 2008), entende-se por fibra os polímeros de glúcidos, com um grau de polimerização não inferior a 3 e que não são nem digeridos, nem absorvidos pelo intestino delgado.

Estas substâncias, apesar de não possuírem capacidade energética, reconstrutiva ou de regulação bioquímica, através do seu volume e consequente acção mecânica sobre o intestino delgado e intestino grosso, contribuem para o seu normal funcionamento, ao favorecerem a regulação da flora bacteriana, a absorção de água e de nutrientes (Instituto Nacional de Saúde Dr Ricardo Jorge, 1987).

As celulosas e hemicelulosas, as substâncias pécticas e a lenhina, são exemplos de substâncias classificadas como fibra alimentar. Alimentos como os cereais ou derivados de

cereais, raízes, tubérculos, frutos e vegetais são grandes fontes de fibra (Guillon, *et al.*, 2003), como é possível verificar no Quadro 1.

Quadro 1 – Teor em fibra alimentar da maçã, limão, farelo de trigo e ananás.

Fonte de Fibra	Fibra Alimentar (g / 100 g produto)
<b>Maçã com casca</b>	2,1
<b>Limão</b>	2,1
<b>Farelo de Trigo</b>	30
<b>Ananás</b>	1,2

Fonte: (Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, 2006)

As substâncias pécticas são constituídas por um conjunto de polissacáridos que representam um terço da matéria seca da parede celular das dicotiledónias e de algumas monocotiledónias (Jarvis *et al.*, 1988). O ácido  $\alpha$ -D-galacturónico é o principal constituinte das moléculas de pectina. As cadeias lineares de ácido  $\alpha$ -D-galacturónico são unidas por ligações glicosídicas  $\alpha$ -(1→4). A linearidade da cadeia é interrompida por resíduos de L-ramnose com ligação  $\alpha$ -(1→2).

As suas funções nos tecidos vegetais passam por regular o crescimento celular, manter as características físicas e sensoriais dos frutos frescos e também de defesa contra os microrganismos (Wang *et al.*, 2002).

Ao longo da maturação dos frutos, ocorrem mudanças na estrutura das pectinas. Geralmente verifica-se um aumento das pectinas hidrossolúveis e uma perda acentuada da protopectina, devido à acção de enzimas como as poligalacturonases e a pectinametilesterase (Bartley & Knee, 1982). São estas alterações que provocam a perda de firmeza dos frutos.

A nível nutricional e fisiológico a pectina tem um papel muito importante no organismo. Sendo uma fibra dietética, não é degradada pelas enzimas digestivas, logo não é absorvida pelo tracto gastrointestinal. No entanto, as pectinas podem ser fermentadas no cólon pela microflora presente e transformadas em CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, H<sub>2</sub> e ácidos gordos de cadeia curta. Estes ácidos gordos além de serem uma fonte energética para as células da mucosa do intestino grosso, podem também ser absorvidos, fornecendo energia e outros efeitos metabólicos (Wang *et al.*, 2002).

Vários estudos demonstraram que a pectina afecta o metabolismo dos glúcidos, pois esta e outras fibras dietéticas têm a capacidade de diminuir a taxa de absorção no tracto



gastrointestinal. Há muitos anos que se utiliza pectina para tratar diarreias, vômitos e úlceras, actualmente sabe-se que tem muito mais aplicações biomédicas (Wang *et al.*, 2002).

---

## 4 Tratamentos de Stress Abiótico Controlado

---

Devido à tendência crescente para o consumo de produtos naturais e benéficos para a saúde, surge a necessidade de enriquecer os alimentos em compostos bioactivos sem adição de agentes químicos. O enriquecimento dos produtos frescos em compostos bioactivos é também uma oportunidade para os produtores e processadores acrescentarem valor aos produtos e criar novas oportunidades no mercado (Cisneros-Zevallos, 2003).

### 4.1 Implicação na Síntese de Compostos Bioactivos

---

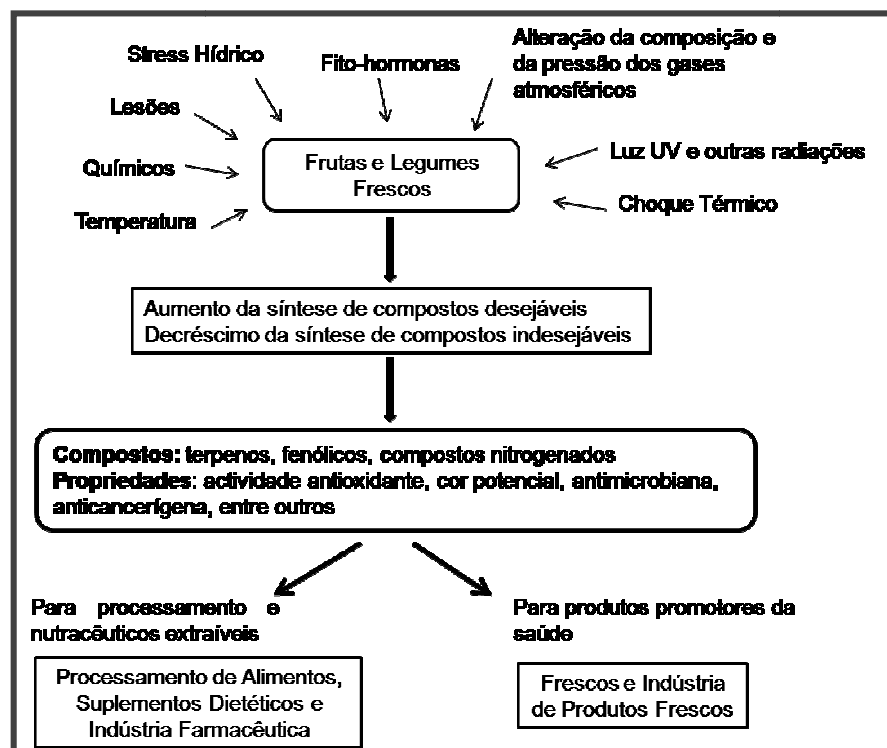
As plantas quando sujeitas a condições desfavoráveis (stress abiótico), como por exemplo, ambientes muito frios ou muito quentes, défice de água ou de oxigénio, ferimentos, entre outros, entram num certo grau de stress e consequentemente expressam apenas uma parte do seu potencial genético. São assim afectadas as vias envolvidas na biosíntese dos terpenos, dos fenóis e dos compostos nitrogenados (Cisneros-Zevallos, 2003).

Quando os tecidos vegetais saudáveis são sujeitos a lesões, como corte ou abrasão, produzem sinais que vão dos tecidos feridos para os tecidos saudáveis e induzem a síntese de proteínas específicas. Estas proteínas podem ser enzimas do metabolismo fenólico, como a PAL (fenilalanina amónia liase), ocorrendo acumulação de compostos fenólicos (Saltveit, 2000).

A PAL catalisa a primeira fase na biosíntese dos compostos fenólicos, que por desaminação da L-fenilalanina origina o ácido trans-cinâmico, que por sua vez é o primeiro intermediário da biosíntese dos fenóis. Nas fases seguintes ocorrem derivações responsáveis pela formação de vários compostos secundários (Rivero, *et al.*, 2001).

Vários são os estudos que demonstram um aumento na síntese de compostos fenólicos na sequência do corte. Saltveit (2000) ao trabalhar com alface mostrou que, os choques térmicos contribuem para diminuir a acumulação de fenóis, devido à inibição da PAL, que é responsável pela síntese fenólica. Os sumos de mirtilo cujos frutos foram sujeitos a um tratamento de branqueamento apresentam um teor em compostos fenólicos mais elevado e uma cor mais azulada, devido à extracção mais intensa de antocianinas solúveis (Rossi, *et al.*, 2003).

A Figura 6 é representativa da utilização do stress abiótico controlado no aumento do teor de compostos bioactivos e no acréscimo de valor a frutos e vegetais.



Fonte: (Adaptado de Cisneros-Zevallos, 2003)

FIGURA 6- Esquema representativo da utilização do stress abiótico controlado no aumento do teor de compostos bioactivos e no acréscimo de valor a frutos e vegetais.

## 4.2 Implicação na Prevenção do Escurecimento Enzimático

O tratamento de stress abiótico controlado não tem apenas a função de aumentar a síntese de compostos bioactivos. Pretende-se também com este tipo de tratamento, reduzir o escurecimento causado pelas enzimas, aquando da ruptura dos tecidos vegetais. Na Figura 7, apresenta-se um esquema ilustrativo do metabolismo dos compostos fenólicos.

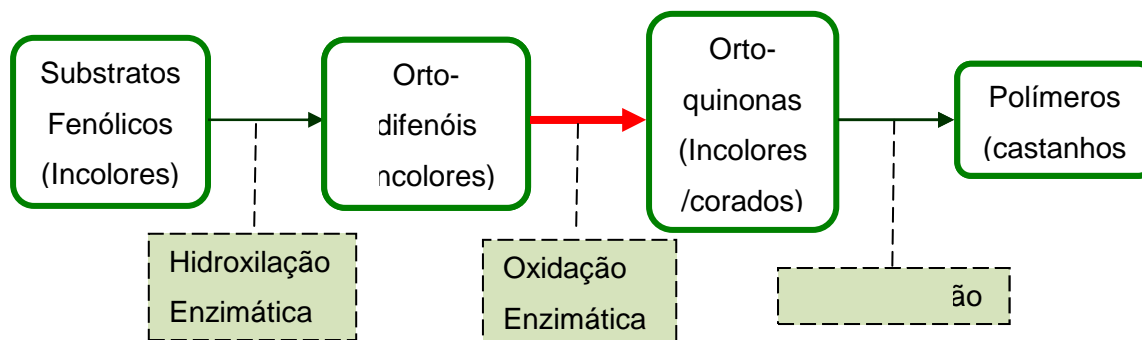


FIGURA 7- Esquema ilustrativo do metabolismo dos compostos fenólicos

Ao ser aplicado o tratamento de stress abiótico controlado com o objectivo de prevenir o escurecimento enzimático, no metabolismo dos compostos fenólicos não pode ocorrer oxidação enzimática (fase indicada com a seta vermelha na Figura 7). É assim necessário que o tratamento de stress abiótico seja aplicado antes dos orto-difenóis, por oxidação, originarem as orto-quinonas que já podem possuir algum tipo de coloração. Sendo assim, o tratamento aplicado interrompe as vias metabólicas normais das enzimas antes de estas oxidarem os orto-difenóis. Obtém-se então a síntese de compostos fenólicos, sem aumentar o escurecimento enzimático dos tecidos vegetais.

Na prática nem sempre é fácil recorrer a esta técnica, na medida em que estas reacções acontecem muito rapidamente e nem sempre é possível aplicar os tratamentos no momento em que é necessário.

---

## 5 Desenvolvimento de Novos Produtos

---

São variadíssimas as razões para a necessidade de trazer novos produtos para o sector alimentar. Inovadores ou não, o mercado exige cada vez mais a introdução de novidades nas superfícies comerciais. A mudança de hábitos alimentares dos consumidores leva a que a indústria tenha de se adequar e acompanhar esta evolução, de maneira a satisfazer as suas necessidades.

O consumidor apresenta uma crescente preocupação com a saúde, no entanto, o tempo que possui para preparar refeições saudáveis é cada vez mais escasso. Sendo assim, a indústria e os investigadores têm um papel fundamental em desenvolver produtos de elevada conveniência e que forneçam os nutrientes essenciais.

Por outro lado, existe também a necessidade das empresas substituírem produtos que estão no fim do seu ciclo de vida, sendo melhor estratégia ser a própria empresa a substituir esses produtos do que uma concorrente. Hoje em dia para uma empresa ser bem sucedida tem de possuir competitividade, uma das maneiras de o conseguir é o lançamento de novos produtos diferenciados, isto é, produtos de alto valor acrescentado que se dirigem a certos segmentos de mercado. Com a crescente competitividade entre as empresas, torna-se cada vez mais importante que o tempo para desenvolver um novo produto seja o mais reduzido possível.

A definição de novo produto é muito abrangente e engloba produtos inovadores / inovações radicais, novas linhas de produtos, aumento da linha de produtos já existentes, melhoria e revisões de produtos existentes, reposicionamento e redução de custos (Capitão & Silva, 2008).

Apesar de ser muito vantajoso para uma empresa colocar novos produtos no mercado, o facto é que se torna um grande risco. Todas as fases que antecedem a saída de um novo produto para o mercado são bastante dispendiosas. Embora possam ser feitos muitos estudos, nenhum garante a 100 % o sucesso das vendas.

Embora a sua formulação seja muito importante, todo o conceito associado ao produto e à marca é fundamental para o sucesso. É assim essencial que a sua imagem seja associada a algo atractivo e interessante para o consumidor.

Podem-se evidenciar vários níveis num produto: Produto Essencial, isto é, parte do produto ingerida pelo consumidor, Produto Perceptível, isto é, aspectos que contribuem para a formação da imagem do produto e Produto Adicionado que corresponde aos serviços que estão associados ao produto (Duarte, 2008).

Formulação, embalagem, utilização, imagem, marketing, e preço são alguns dos factores decisivos na concepção de um produto (Oliveira, 2008). Tão importante como conhecer quais as necessidades dos consumidores e os factores a que dão mais importância é conhecer as necessidades do sector da grande distribuição. Pode-se através da sua consulta, detectar falhas no mercado, e eventualmente preenchê-las. Além de que este sector se torna cada vez mais importante devido ao seu papel de intermediário nas vendas.

Se há relativamente pouco tempo se verificava uma corrida aos alimentos de baixo teor em calorias, tem-se verificado presentemente uma crescente preocupação com a saúde e o bem-estar geral, logo os alimentos saudáveis têm tido um papel importante. Surge assim não só uma preocupação em ingerir alimentos saudáveis, mas também alimentos que forneçam compostos bioactivos capazes de prevenir as mais diversas doenças. É neste sentido que a indústria dos produtos hortofrutícolas tem vindo a tentar aproveitar esta tendência para explorar os seus produtos de maneira a satisfazer as necessidades e desejos dos seus clientes.

Desde os produtos de IV gama, aos sumos frescos, são muitos os produtos que têm surgido no mercado e que têm cada vez mais reconhecimento por parte de distribuidores e consumidores. O facto de os hortofrutícolas serem muito ricos em nutrientes, que por um lado são essenciais à saúde e por outro ajudam na prevenção de muitas doenças, é uma mais-valia para o sector. Torna-se assim importante o desenvolvimento de novos produtos que facilitem o consumo de hortofrutícolas, de maneira a ir de encontro ao estilo de vida moderno.

---

## Parte II - Desenvolvimento Experimental

---

O objectivo principal do presente estudo centrou-se na produção de polpas de maçã com elevado teor de compostos bioactivos. Como processo de estabilização elegeram-se apenas processos físicos, nomeadamente o branqueamento para a estabilização enzimática e a congelação para estabilização ao longo do tempo. No sentido do enriquecimento em compostos bioactivos estudou-se o efeito da adição de amora e de farelo de trigo bem como o efeito de processos térmicos moderados (TTM) às matérias-primas na promoção na síntese deste tipo de compostos. As polpas produzidas foram conservadas por congelação a -18°C.

Como em qualquer desenvolvimento de produto, o desenvolvimento experimental das polpas de base maçã, foi realizado através de várias etapas consecutivas.

- A primeira fase, denominada **Delineamento Conducente à Formulação**, objectivou a definição da formulação base para as polpas de maçã.
- A segunda fase, **Estudo dos Tratamentos Físicos**, incidiu na determinação dos melhores binómios tempo/temperatura para os TTM's e para o branqueamento. No que respeita aos TTM's foram testados tempos diferentes entre a sua aplicação e o processamento.
- Na terceira fase, **Desenvolvimento das Polpas com Integração de Tratamentos Físicos**, desenvolveram-se as polpas de maçã com a formulação definida na primeira fase e com os binómios tempo/temperatura determinados na segunda fase. Visto que se concluiu que o binómio determinado na segunda fase não foi eficiente para cumprir os objectivos propostos, houve a necessidade de efectuar um **Reajuste do Binómio Tempo/Temperatura de Branqueamento**.

---

## 6 Delineamento Conducente à Formulação

---

A optimização das variáveis do processo efectuou-se através do delineamento estatístico Composto Central Rotacional com base na Metodologia de Superfície de Resposta (MSR). Neste delineamento estatístico consideraram-se três variáveis independentes: teor limão ( L ), teor de amora ( A ) e teor de farelo ( F ). As gamas de variação para as variáveis independentes Limão, Amora e Farelo foram entre 0 e 8 %, 0 e 5 % e entre 0 e 2,5 %, respectivamente. A matriz codificada e decodificada encontra-se no Anexo 2.

As polpas depois de produzidas e devidamente acondicionadas em embalagem de plástico próprio para congelação foram imediatamente congeladas e mantidas durante dois meses.

Após este período as amostras foram descongeladas e analisadas segundo o seguinte protocolo (variáveis dependentes): TSS, pH, teor em fenóis totais, humidade, parâmetros de cor CIELab e avaliação sensorial (cor, cor a frutos vermelhos, gosto a maçã, acidez, doce, areado, apreciação global e intenção de compra – Ficha no Anexo 8).

Os resultados obtidos foram tratados pelo Método de Superfícies de Respostas (RSM) (software Statistica 6.1) e utilizou-se o modelo empírico de regressão polinomial quadrático (Equação 1) para estimar as respostas individuais Y.

$$Y = b_0 + b_1 T + b_2 t + b_3 t_A + b_{12} T t + b_{13} T t_A + b_{23} T t_A + b_{11} T^2 + b_{22} t^2 + b_{33} t_A^2 \quad (\text{Equação 1})$$

No sentido de perceber qual a importância da adição de farelo de trigo na componente da fibra insolúvel, cinza e composição mineral, procedeu-se à quantificação destes parâmetros numa polpa produzida com a formulação já delineada com e sem adição de farelo de trigo.



## 6.1 Materiais

---

A maçã utilizada nos ensaios pertence à variedade Fuji, foi fornecida pela empresa CAMPOTEC e mantida sob condições de refrigeração (4°C) até à sua utilização.

As amoras, provenientes da herdade da Facata, foram conservadas a -18 °C.

O farelo de trigo foi adquirido numa superfície comercial (marca comercial: Cem por Cento – Produtos Naturais) e conservado na embalagem em local fresco e seco.

## 6.2 Métodos

---

### 6.2.1 Processamento das Polpas

---

Massas conhecidas de frutas e o farelo (de acordo com a matriz do delineamento experimental) foram introduzidas e trituradas em moinho de facas Urschel, modelo Comitrol 3610 com motor de 10 CV, 400 Volts, 50 Hz, equipado com uma cabeça de corte ref.<sup>a</sup> 66754 – 3K 030 120U, impulsor tipo dio-cut, velocidade 3.000 rpm, com um crivo de 1,8 mm de diâmetro. Cada formulação foi colocada em sacos de polietileno devidamente identificados e selados.

As amostras foram congeladas a -18 °C e mantidas durante dois meses e só depois analisadas.

### 6.2.2 Determinações Químicas

---

#### Determinação do pH

O pH das amostras foi determinado por potenciometria, com o potenciómetro Denver Instrument Model 220. O aparelho foi calibrado a 20°C, com soluções tampão de pH=4 e pH=7. Para cada amostra foram efectuadas 3 determinações.

#### Determinação do Teor de Sólidos Solúveis (TSS)

O TSS de cada amostra foi determinado recorrendo a um refractómetro (Pocket Refractometer PAL-1 Atago). As amostras foram filtradas com o auxílio de um filtro de pano,

onde se rejeitaram as primeiras gotas e só depois se efectuaram as determinações. O resultado é expresso em ° Brix, que corresponde à % de sólidos solúveis por 100 g de produto. Para cada amostra foram efectuadas 3 determinações.

### **Determinação da Humidade (Resíduo Seco Total)**

Na determinação da humidade utilizou-se o método gravimétrico, sujeitando-se as amostras a uma secagem em estufa a 100 °C até massa constante.

As pesagens foram efectuadas numa balança analítica Denver Instrument TB-110 e realizaram-se 3 determinações por amostra.

### **Determinação do Teor de Fenóis Totais**

Na determinação do teor de fenóis totais, recorreu-se a um método interno. Foram pesadas 5 g de cada amostra para um balão volumétrico de 100 ml completando o remanescente volume com água destilada. Seguidamente procedeu-se a uma filtração da mistura. Recorreu-se ao método espectrofotométrico e efectuaram-se as leituras em duplicado a 280 nm. Recorreu-se a uma curva de calibração para expressar os resultados em mg ácido gálico / 100 g produto.

### **Determinação da Fibra, Cinza e Composição Mineral da Cinza**

Dada a importância destes parâmetros no valor nutricional das polpas, foram efectuadas as respectivas determinações em polpas com e sem farelo de trigo, de modo a perceber o contributo do farelo na componente da fibra insolúvel (NDF), teor de cinza e componente mineral.

No âmbito da determinação da fibra insolúvel, recorreu-se ao método de Van Soest, *et al.*, 1991. Foi assim determinado o teor de hemicelulose e celulose das polpas à base de maçã com e sem adição de farelo de trigo.

Na determinação do teor de cinza realizou-se uma calcinação em mufla a  $525 \pm 25$  °C.

Para a determinação da componente mineral das amostras recorreu-se à espectrofotometria por absorção atómica.

### 6.2.3 Determinação da Cor CIELab

---

A cor foi determinada com um colorímetro Minolta CR300 pelo sistema CIELab, previamente calibrado com um padrão branco ( $L^* = 97,46$ ;  $a^* = -0,02$ ;  $b^* = 1,72$ ). Foram efectuadas 10 determinações em cada amostra. Este sistema baseia-se no sistema de cor  $L^* a^* b^*$ , isto é, o espaço CIELab que fornece uma representação tridimensional para a percepção de estímulos da cor.

O eixo  $L^*$  representa a luminosidade que pode variar de preto (0) a branco (100). O eixo  $a^*$  varia de vermelho (+60) a verde (-60). O eixo  $b^*$  varia de amarelo (+60) a azul (-60).

A partir de  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  é possível calcular a cromaticidade ( $C^*$ ) e a tonalidade da cor ( $H^\circ$ ), através das seguintes expressões matemáticas:

$$H^\circ = \arctg\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (\text{EQ. 2})$$

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (\text{EQ. 3})$$

### 6.2.4 Análise Sensorial

---

As provas foram realizadas na sala de provas do Departamento de Agro-indústrias e Agronomia Tropical do Instituto Superior de Agronomia. Recorreu-se a um painel semi treinado de 10 provadores com idades entre os 22 e os 66 anos.

Foi pedido a cada provador que avaliasse os parâmetros acidez, cor geral, cor a frutos vermelhos, gosto a maçã, doce, areado, apreciação global e intenção de compra, numa ficha de prova de escala estruturada, conforme Anexo 8. Em cada sessão foram apresentadas 4 amostras.

As amostras foram pontuadas de acordo com uma escala estruturada de 1 a 5. Na cor geral a escala foi classificada desde muito clara (1) a muito escura (5). Na cor a frutos vermelhos, de ausente (1) a excessiva (5). No gosto a maçã, de ausente (1) a característico (5). Na acidez, de nada ácido (1) a excessivamente ácido (5). No doce, de nada doce (1) a excessivamente doce (5). No areado, de ausente (1) a excessivo (5). Na apreciação global, de não gosto nada (1) a gosto muito (5). Na intenção de compra, de não compraria (1) a compraria (5).

## 6.3 Apresentação e Discussão dos Resultados

---

Todos os resultados obtidos para as determinações físicas, químicas e sensoriais estão apresentados no Anexo 2.

Os resultados obtidos em todas as determinações, foram analisados pelo método RSM (Método da Superfície de Resposta) por forma a otimizar os níveis dos vários ingredientes que constituem as polpas de fruta. Os dados foram ajustados a equações polinomiais de segundo grau para cada variável dependente Y.

Foram tomadas em consideração as variáveis a que o modelo se ajustou. Serão apresentadas as superfícies de resposta relevantes para o delineamento de uma formulação adequada.

Em relação aos parâmetros químicos, as variáveis dependentes possíveis de ajustar a equações polinomiais foram o pH e o teor de fenóis totais.

Tornou-se necessário conjugar todos os parâmetros possíveis de ajustar por forma a obter uma formulação equilibrada do ponto de vista sensorial, físico e químico. Relativamente aos parâmetros sensoriais, pretendia-se obter polpas doces com uma acidez moderada, um gosto a maçã característico e uma cor clara. No que respeita aos parâmetros físicos e químicos estudados, pretende-se polpas de cor clara, valores de pH baixos e teor de fenóis elevado.

### A simbologia dos níveis de significância adoptada foi:

- \*  $p < 0,05$
- \*\*  $0,01 < p < 0,05$
- \*\*\*  $p < 0,01$
- \*\*\*\*  $p < 0,001$

### 6.3.1 Acidez Sensorial

---

A partir da Equação 4 é possível verificar a influência significativamente linear do teor em limão na acidez pontuada pelos provadores. Sensorialmente, as polpas deverão apresentar uma acidez moderada, pelo que, o teor de limão se deverá situar entre 2,5 e 4 % (Figura 8). As variáveis independentes, amora e farelo não influenciaram significativamente na percepção sensorial da acidez (Equação 4).

$$AS = 1,44^{****} - 0,02A^2 - 0,17F + 0,34 L^{****} - 0,02 L^2 + 0,04AF + 0,01AL + 0,03FL$$

( Equação 4)

$$R^2 = 0,83 \quad R_{ajust} = 0,68$$

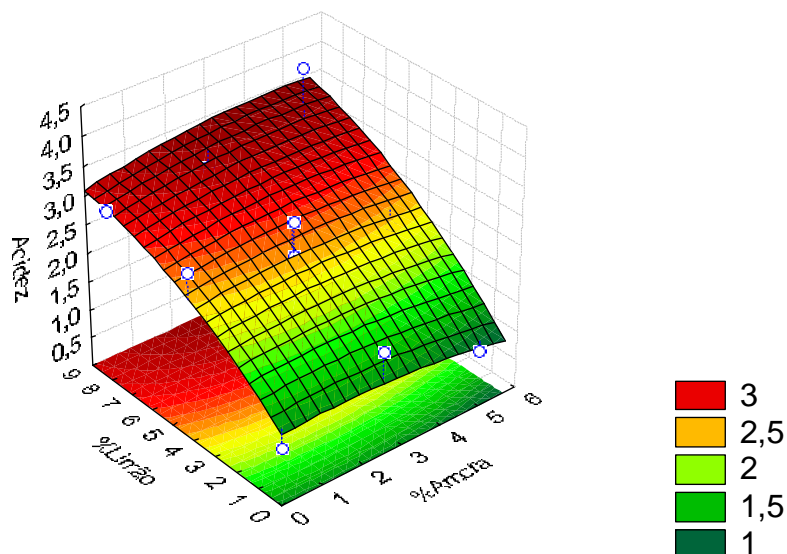


Figura 8 - Superfície de resposta da acidez sensorial (AS) das polpas de maçã em função das variáveis independentes teores de limão e de amora (base seca).

### 6.3.2 Gosto a Maçã

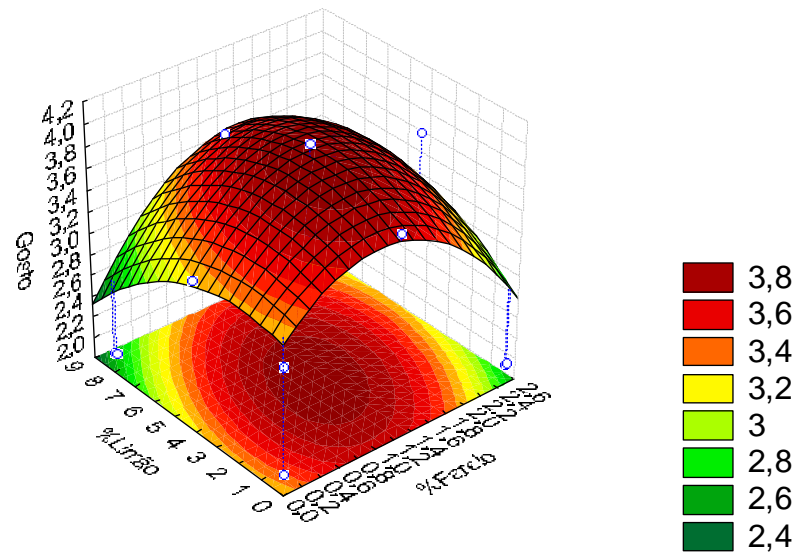
De entre as variáveis independentes estudadas o teor de amora e o teor de farelo foram as que apresentaram um efeito significativo no gosto das polpas de maçã (Equação 5). Da análise das superfícies de resposta relativas ao parâmetro sensorial gosto (Figura 9), verifica-se que concentrações médias das variáveis independentes são mais favoráveis à percepção do gosto característico a maçã. O teor de amora exerce um efeito quadrático negativo, verificando-se que níveis intermédios (1 a 3 %) são os que implicam melhor pontuação de gosto. O teor de farelo influencia o gosto da polpa a nível linear (positivamente) e quadrático (negativamente). Níveis entre 1 e 1,8 % de farelo conferiram melhores características de gosto. No que respeita ao teor de limão, não obstante o seu efeito não ser significativo, níveis intermédios (2 a 4 %) de entre os limites tratados são os mais favoráveis.

$$G = 3,04^{****} + 0,31A - 0,10A^{2**} + 0,68F^{****} - 0,43 F^{2**} - 0,02L^2 + 0,08AF + 0,03AL + 0,06FL$$

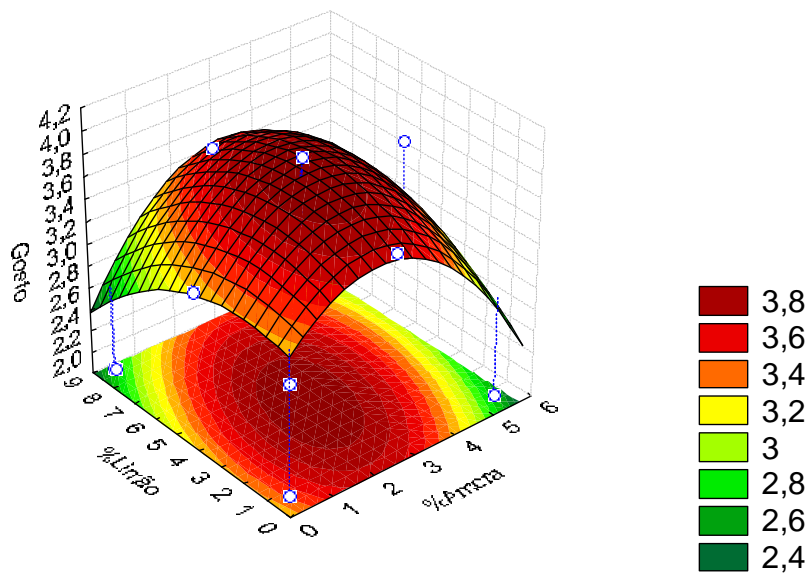
(Equação 5)

$$R^2 = 0,90 \quad R_{ajust} = 0,79$$

a)



b)



c)

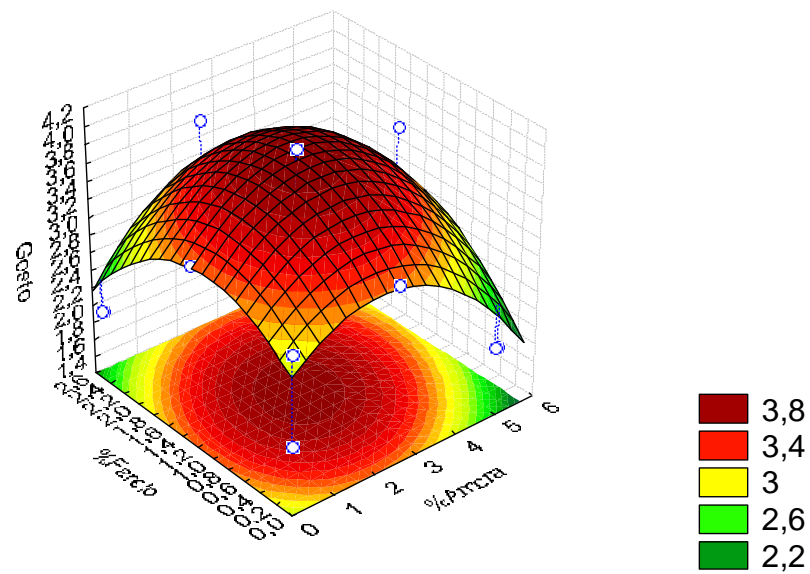


Figura 9- Superfícies de resposta da variável gosto das polpas de maçã (G) em função das variáveis independentes teores de limão e de farelo (a), teores de limão e de amora (b) e teores de farelo e de amora (c).(base seca)

### 6.3.3 Cor Sensorial da Polpa

Relativamente à cor verifica-se que, dentro dos níveis estudados, a variável com influência significativa é o teor de limão que exerce um efeito linear positivo (Equação 6). Teores de limão elevados conduzem a polpas mais claras. Este facto justifica-se pela diminuição do escurecimento enzimático. Apesar de não exercer uma influência significativa verifica-se que teores elevados de amora conduziram a polpas mais escuras, como seria de esperar (Figura 10).

$$CS = 3,80^{****} + 0,04A + 0,03A^2 - 0,23F + 0,15 F^2 + 0,02L^{***} - 0,02AF - 0,10FL$$

(Equação 6)

$$R^2 = 0,83 \quad R_{ajust} = 0,67$$

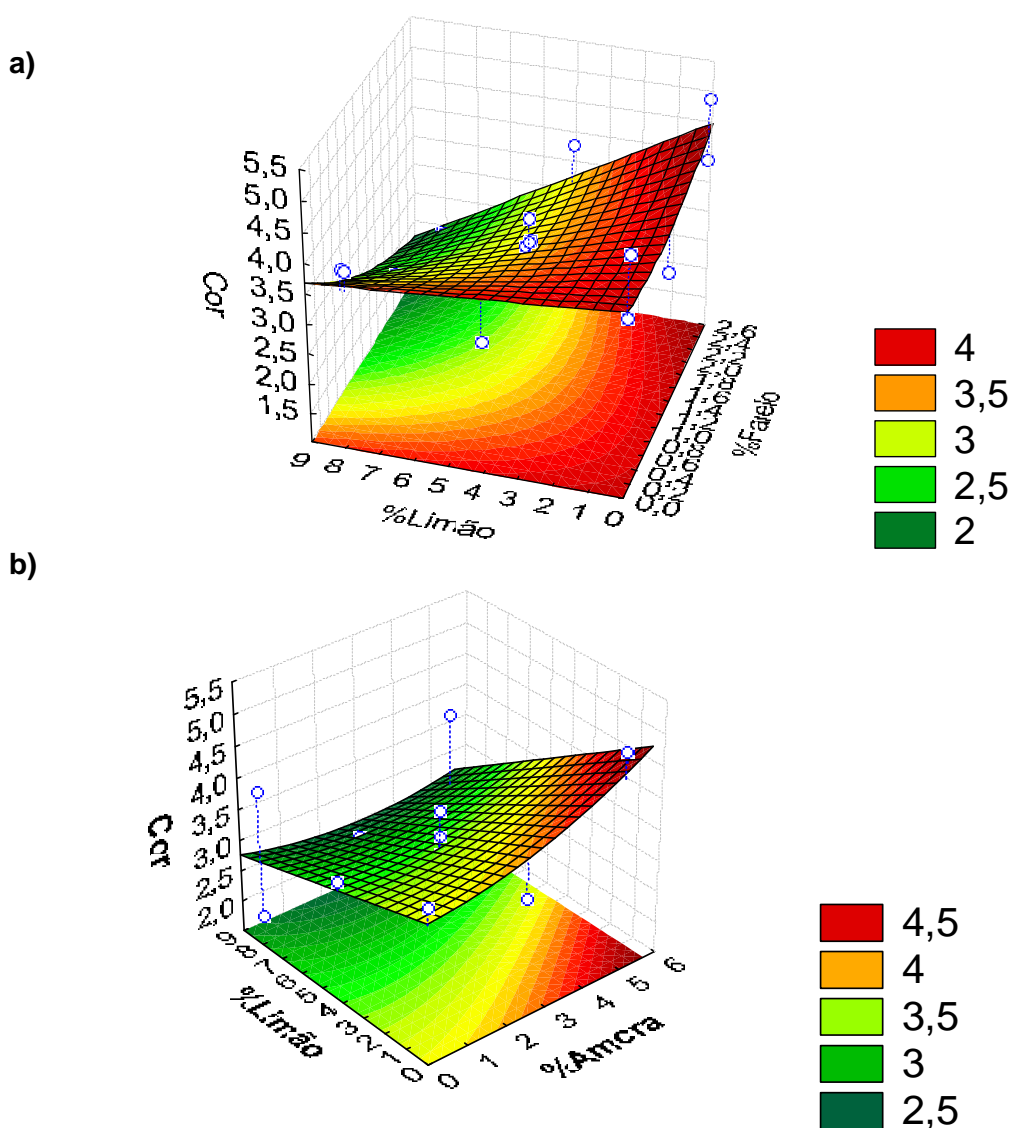


Figura 10- Superfície de resposta da variável cor sensorial da polpa de maçã (CS) em função das variáveis independentes teores de limão e de farelo(a) e teores de limão e de amora (b).(base seca)

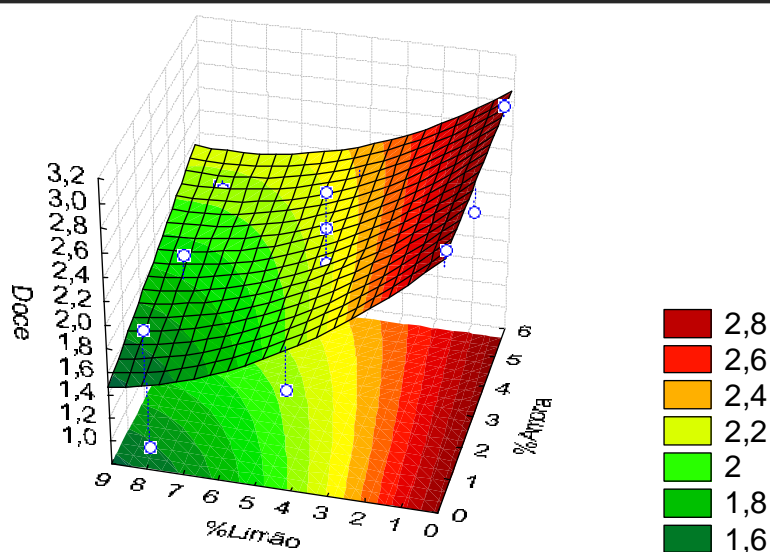
De salientar que as polpas em estudo não apresentam sabor doce muito vincado. A variável independente % limão influencia de forma significativa, linear negativamente, o parâmetro doce (Equação 7). Valores inferiores a 1,5 % são essenciais para a obtenção de polpas em que o sabor doce seja percebido. As variáveis % amora e % farelo têm uma menor influência, no entanto para a obtenção de polpas doces os seus teores devem estar entre 1 e 3% e entre 0,4 e 1,2 % respectivamente (Figura 11).

$$SD = 3,02^{****} - 0,04A - 0,07F - 0,25L^{***} + 0,01L^2 + 0,04AF + 0,01AL - 0,03FL$$

(Equação 7)

$$R^2 = 0,83 \quad R_{ajust} = 0,69$$

a)



b)

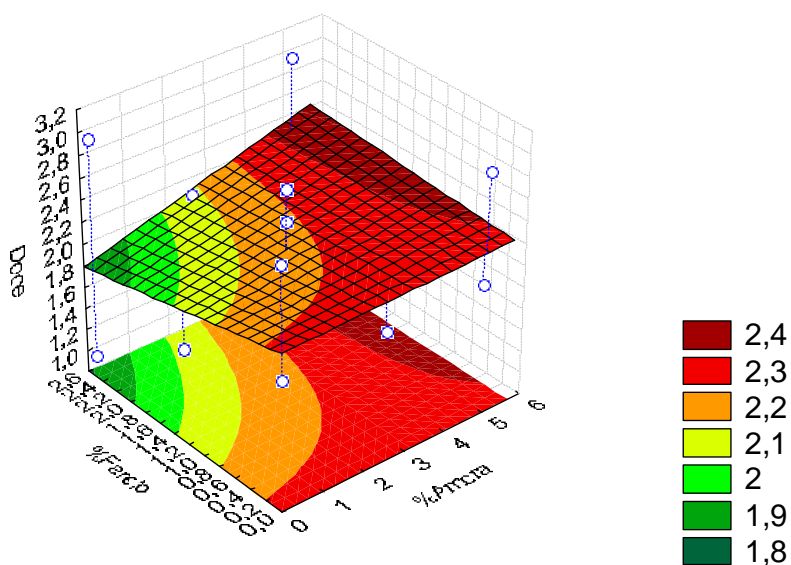


Figura 11- Superfícies de resposta da variável sabor doce das polpas de maçã (SD) em função das variáveis independentes teores de limão e amora (a) e teores de farelo e amora (b). (base seca)



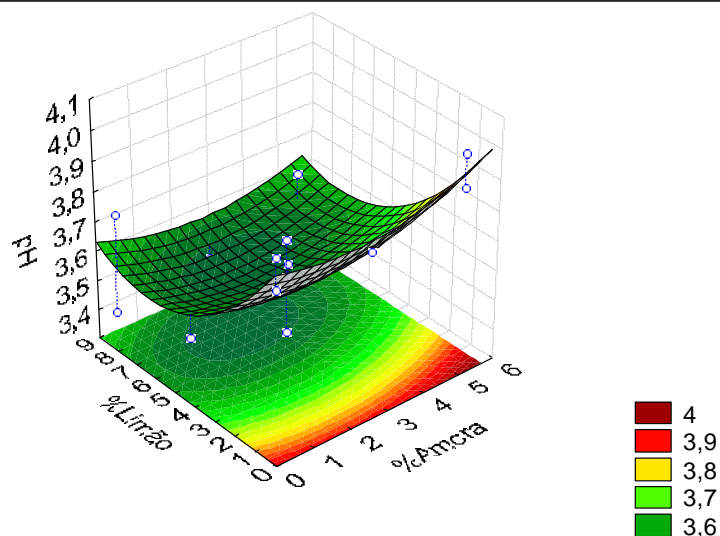
Analisando a Equação 8 e as superfícies de resposta para a variável pH (Figura 12) é possível verificar a influência significativa linear e quadrática da variável % limão. Apesar de não exercerem efeito significativo sobre os valores de pH, a % de amora e a % de farelo devem rondar 1 - 3,5 % e 0 - 0,4 % respectivamente.

$$\text{pH} = 3,83^{****} + 0,01A^2 + 0,08F - 0,12L^{****} + 0,01L^{2**} - 0,03AF^{**} - 0,002AL + 0,004FL$$

(Equação 8)

$R^2 = 0,89$      $R_{\text{ajust}} = 0,79$

a)



b)

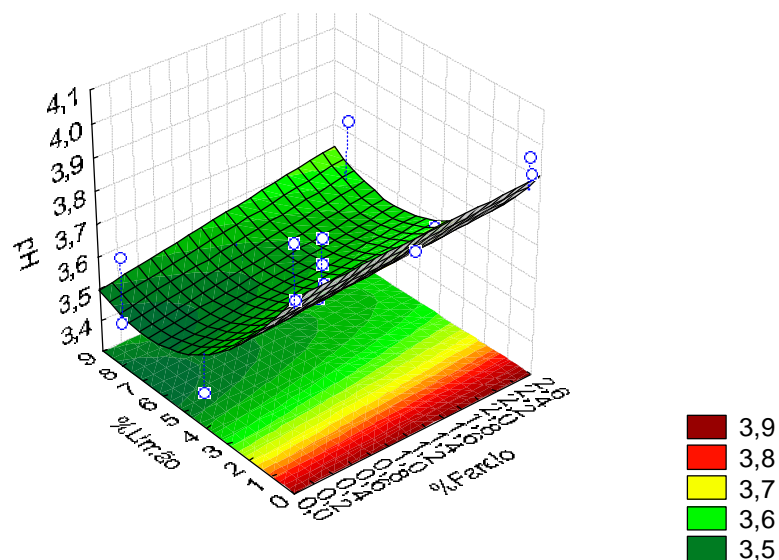


Figura 12- Superfícies de resposta da variável pH das polpas de maçã (pH) em função das variáveis independentes teores de limão e de amora (a) e teores de limão e de farelo (b).(base seca)

### 6.3.6 Teor de Fenóis Totais

Para obter polpas de fruta com elevados teores de fenóis, segundo a Equação 9 e as superfícies de resposta apresentadas na Figura 13, será necessário uma concentração elevada de amora e limão, entre 4,5 e 6 % e entre 4 e 9 % respectivamente. O teor de farelo não tem um peso tão grande, no entanto deve permanecer entre 2 e 2,6 %.

$$FT = 196,36^{****} + 44,38A^{**} + 7,4F + 14,36F^2 + 15,77L^{***} - 16,58AF^{**} + 3,36FL$$

Equação 9

$$R^2 = 0,80 \quad R_{ajust} = 0,67$$

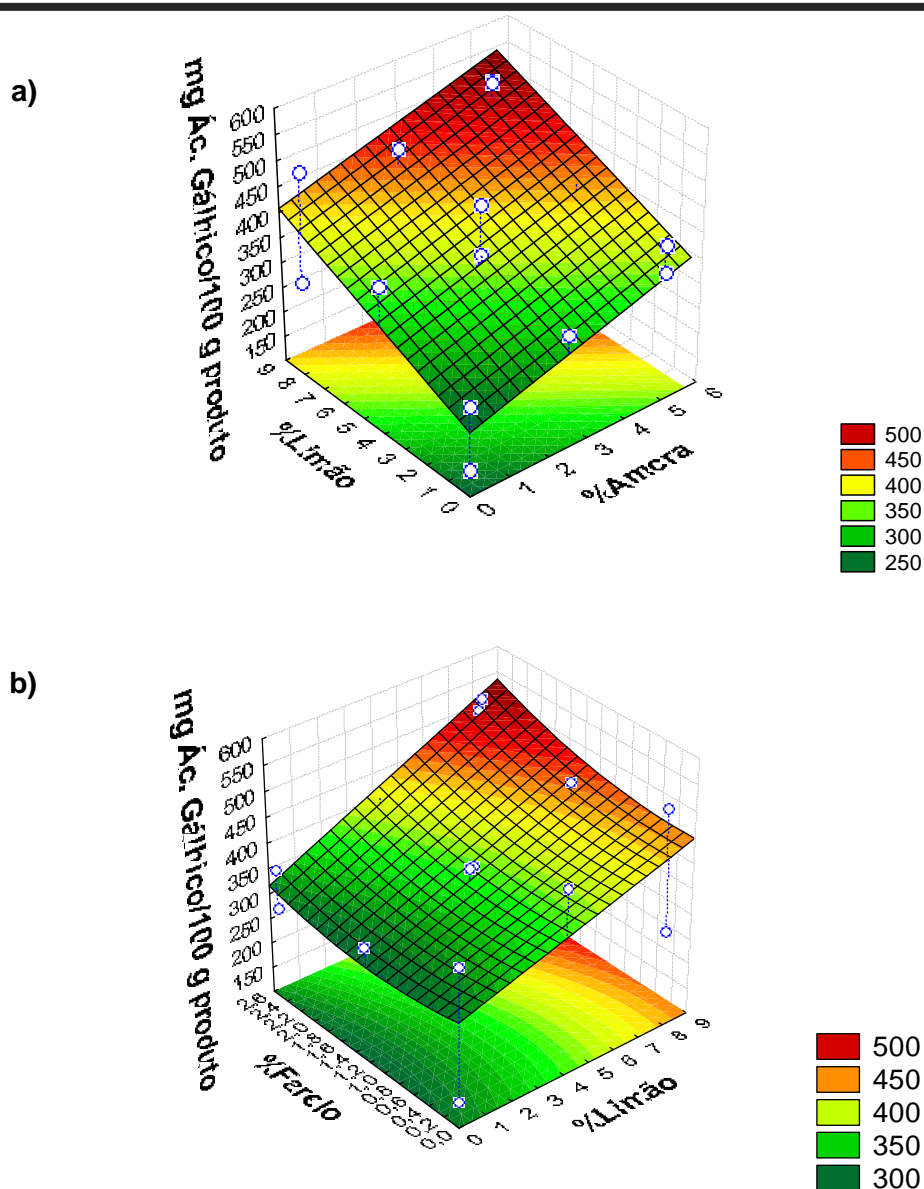


Figura 13- Superfícies de resposta da variável teor fenóis totais das polpas de maçã (FT) em função das variáveis independentes teores de limão e de amora (a) e teores de farelo e de limão (b). (base seca)

### 6.3.7 Análise Conjunta dos Resultados

No sentido de poder proceder a uma análise conjunta da influência das variáveis independentes estudadas nos parâmetros de decisão da formulação da polpa de maçã, apresentam-se no Quadro 2 as concentrações mais favoráveis de farelo, amora e limão.

Quadro 2- Concentrações mais favoráveis para as diferentes variáveis independentes em função das variáveis dependentes

Variáveis Independentes	Variáveis Dependentes					
	Acidez Sensorial	Cor Sensorial	Doce	Gosto	Fenóis Totais	pH
Amora (%)	n.i.	0 - 2	1 - 3	1 - 3	4,5 – 6	1 - 3,5
Farelo (%)	n.i.	2,2 - 2,6	0,4 - 1,2	1 - 1,8	2 - 2,6	0 - 0,4
Limão (%)	3 - 6	7 – 9	<1	2 – 4	4 - 9	5 – 8

n.i. - não influencia

Analisando de uma forma integrada o Quadro 2, verifica-se que os níveis das três variáveis independentes estudadas devem ser equacionados como uma solução de compromisso entre os vários parâmetros analisados. Assim, como seria de esperar o teor de fenóis totais é superior para concentrações de amora elevadas. No entanto, para os restantes parâmetros as concentrações desejadas situam-se em valores mais baixos. Aponta-se assim uma concentração final de amora de 3 %, tendo também em conta que a amora é o ingrediente mais dispendioso, logo uma polpa de fruta com grande teor em amora provavelmente não seria economicamente viável.

Analisando a influência do farelo de trigo, verifica-se que este tem significado para todos os parâmetros excepto para a acidez sensorial. O valor médio encontrado para a concentração mais favorável de farelo situa-se próximo de 1,5 %.

O limão, contrariamente às outras duas variáveis, influencia todos os parâmetros. Uma análise ponderada das várias respostas permite concluir que concentrações próximas de 5 % de limão serão as mais indicadas.

### Fibra

Os teores em fibra insolúvel, hemicelulose e celulose das amostras de polpa com e sem adição de farelo de trigo estão representados na Figura 14.

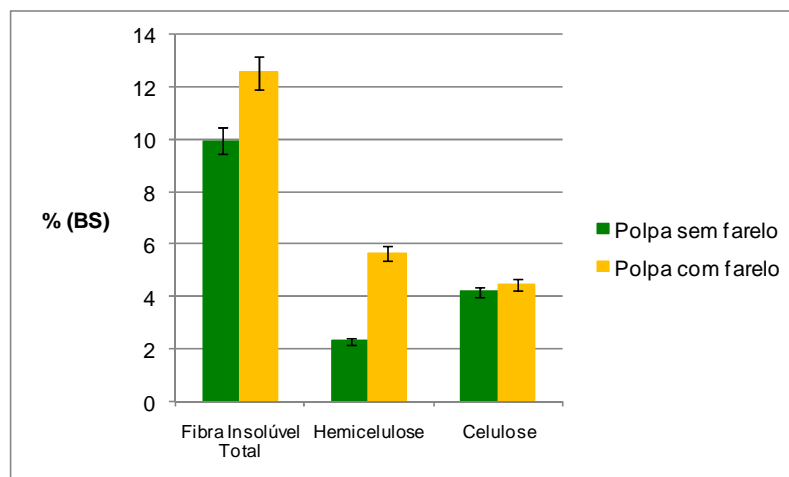


Figura 14 – Teores de fibra insolúvel, hemicelulose e celulose em base seca (BS) das amostras de polpa com e sem adição de farelo de trigo. (barras de erro com percentagem de 5 %)

Pela observação do gráfico apresentado na Figura 14 verifica-se que o farelo de trigo tem uma contribuição bastante relevante no que diz respeito ao teor de fibra. De salientar que o grande incremento se dá ao nível do teor de hemicelulose. Relativamente ao teor de celulose o mesmo não se verifica. Apesar de o teor de celulose ser superior na amostra de polpa adicionada de farelo, a diferença entre as duas amostras não mostrou ser relevante. Este incremento no teor de fibra insolúvel, revela-se importante, dado ser um composto da dieta alimentar que traz grandes benefícios para a saúde pois além de contribuir para o normal funcionamento do tracto intestinal, favorece a regulação da flora bacteriana, a absorção de água e de nutrientes.

## Cinza e Componente Mineral

Na Figura 15 encontram-se os valores das determinações do teor de cinza para a amostra de polpa sem adição de farelo e para a amostra de polpa com adição de farelo.

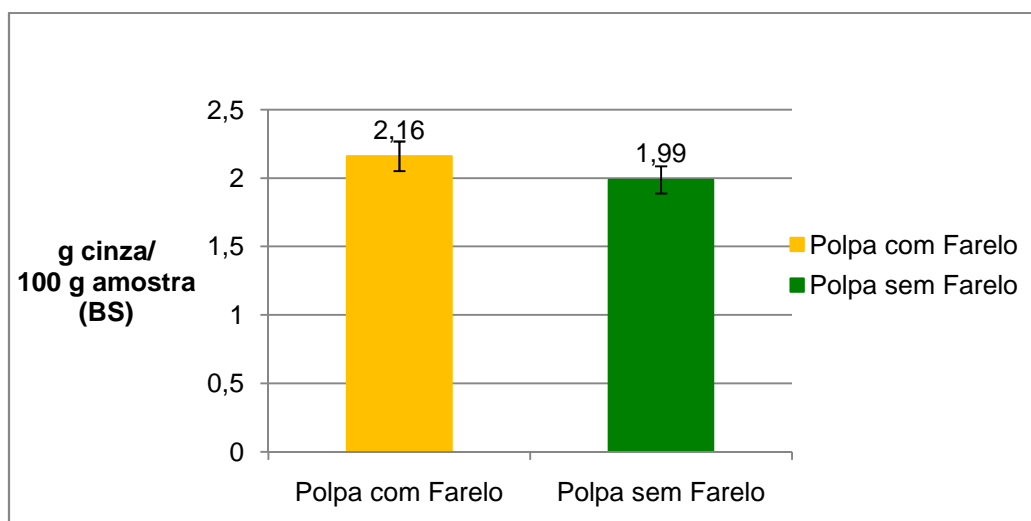


Figura 15 - Teor de cinza em base seca (BS) da polpa de fruta com e sem adição de farelo (barras de erro com percentagem de 5 %)

Como esperado, a adição de farelo, contribui para um aumento do teor em cinza.

A composição mineral da cinza, no que respeita aos teores de Cálcio, Magnésio, Potássio e Ferro está apresentada na Figura 16.

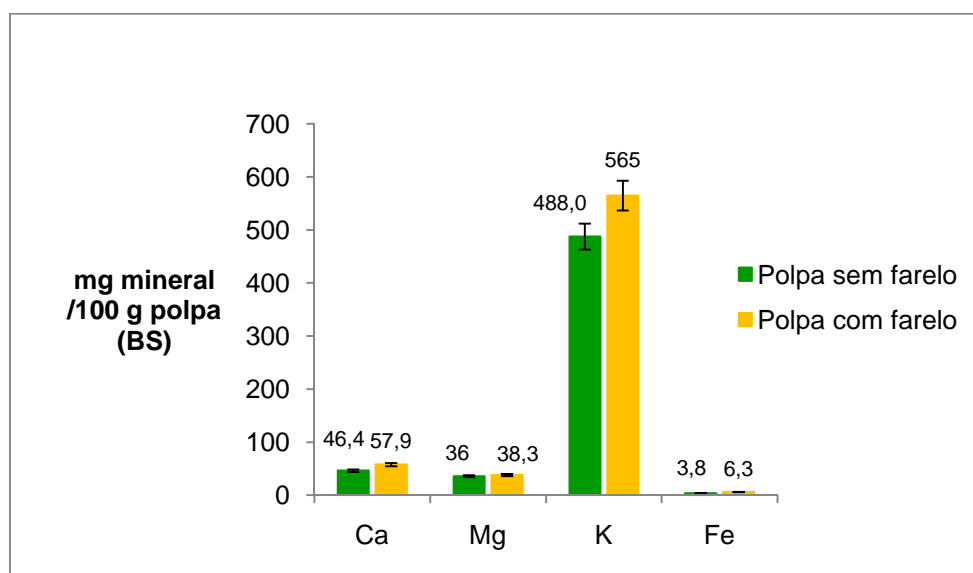


Figura 16- Teor de cálcio, magnésio, potássio e ferro da polpa de fruta com e sem adição de farelo (barras de erro com percentagem de 5 %).

A análise da Figura 16 permite observar que a adição de farelo contribui para um incremento da composição mineral da polpa. O aumento do teor em potássio (K) é o mais relevante. Segundo o Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (2006), o farelo de trigo é particularmente rico em K (900 mg/ 100 g).

## **6.4 Considerações Intercalares**

---

Baseado nos estudos realizados, chegou-se a uma formulação base para as polpas de maçã em que o teor de limão deve ser de 5 %, o teor de farelo de 1,5% e o teor de amora de 3 %. Foi com base nesta formulação que se realizaram as restantes etapas do presente estudo.

O farelo de trigo mostrou contribuir para o incremento no teor em fibra e minerais das polpas à base de maçã.

---

## 7 Estudos Relativos aos Tratamentos Físicos

---

---

### 7.1 Tratamentos Térmicos Moderados

---

Para a determinação do binómio tempo/temperatura dos Tratamentos Térmicos Moderados (TTM) procedeu-se à realização de testes com binómios de 5' / 50 °C e 20' / 45 °C com 12 e 24 horas de armazenamento antes do processamento propriamente dito. Com os TTM's aplicados ao fruto inteiro, pretende-se aumentar o teor de fenóis da maçã. Os binómios tratados tiveram por base o estudo realizado com maçã cv. Fuji que indicava que o melhor TTM é de 52 °C durante 5 minutos (Bender, *et al.*, 2002).

#### 7.1.1 Materiais e Métodos

---

Os TTM foram efectuados utilizando um banho termoestatizado para as temperaturas pretendidas e um termómetro digital com termopar.

As determinações dos fenóis totais e da cor objectiva foram efectuadas segundo as metodologias mencionadas anteriormente.

Maçãs de igual calibre foram mergulhadas no banho termoestatizado e para controlo da temperatura foi inserida a sonda do termopar num dos frutos. A contagem do tempo de tratamento iniciou-se apenas quando o interior das maçãs atingiu a temperatura desejada. Após o TTM as maçãs foram separadas em dois lotes e armazenadas numa câmara frigorífica a 4 °C durante 12 e 24 horas respectivamente. Depois do tempo de armazenamento pretendido as maçãs foram reduzidas a puré e foram efectuadas determinações do teor de fenóis totais e da cor objectiva, 15 minutos após a trituração.

Os resultados das componentes L\*, c\* e h° da cor, foram submetidos a análise de variância ANOVA/MANOVA, teste de Fisher pelo software STATISTICA 6.1.

### 7.1.2 Apresentação e Discussão dos Resultados

Pela análise da Figura 17 é possível observar que a amostra M0 revelou um teor de fenóis inferior às amostras que sofreram TTM's, logo a aplicação de TTM's teve um efeito benéfico no aumento do teor de fenóis. Os valores das determinações do teor de fenóis encontram-se no Anexo 4.

As amostras M2 e M3 foram as que revelaram um maior teor de fenóis. Sendo a diferença entre as duas, pouco relevante, considerou-se que as melhores condições para os TTM's seriam as da amostra M2 (50 °C/5'/24 h), pois o tempo de aplicação é menor (5 minutos) o que industrialmente é favorável, sendo ainda preferível o tempo de armazenamento de 24 horas, pois permite planejar as operações na indústria mais eficazmente. Confirmou-se assim o estudo de Bender, *et al.*, (2002) que referia como melhor binómio de TTM, 52 °C / 5' na maçã cv. Fuji.

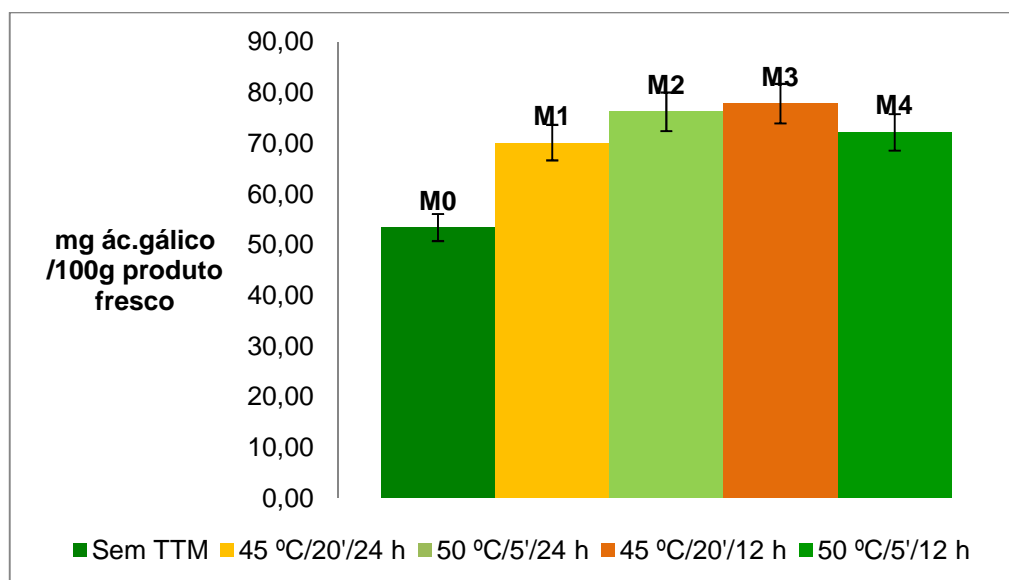


Figura 17 – Teor de Fenóis Totais de polpas de maçã produzidas com frutos submetidos a diferentes TTM's. (barras de erro com percentagem de 5 %)



Analisando os resultados do Quadro 3, verifica-se que a amostra M0 é significativamente diferente ( $p < 0,05$ ) de todas as outras e para todos os parâmetros da cor. Relativamente ao parâmetro  $L^*$  (luminosidade), a amostra M0 diferencia-se de todas com um valor de  $L^* = 47,11$ , assim como a amostra M4 com um valor de  $L^* = 43,76$ . As amostras M1, M2 e M3 não possuem diferenças significativas entre si ( $p > 0,05$ ). No parâmetro  $c^*$  (cromaticidade) apenas a amostra M0 possui um valor mais baixo e significativamente diferente das restantes amostras. As amostras M1 e M2 não apresentam diferenças significativas entre si ( $p > 0,05$ ), assim como as amostras M2 e M4 no parâmetro  $h^0$  (tonalidade). Estes resultados mostram que as polpas cujas maçãs foram sujeitas a TTM's sofreram escurecimento mais pronunciado e possuem uma maior saturação da cor.

Quadro 3 - Valores médios e erro padrão para os parâmetros da cor em polpas de maçã produzidas com frutos submetidos a diferentes TTM's.

Amostra	t (min)	T (°C)	Armazenamento (horas)**	$L^*$	$c^*$	$h^0$
M0	-	-	-	$47,11^b \pm 0,49$	$26,21^b \pm 0,23$	$1,48^c \pm 0,012$
M1	45	20	24	$41,57^a \pm 0,29$	$27,10^a \pm 0,28$	$1,42^a \pm 0,004$
M2	50	5	24	$42,44^a \pm 0,38$	$27,78^a \pm 0,15$	$1,43^{ab} \pm 0,006$
M3	45	20	12	$41,66^a \pm 0,30$	$27,30^a \pm 0,43$	$1,40^c \pm 0,006$
M4	50	5	12	$43,76^b \pm 0,24$	$27,07^a \pm 0,24$	$1,44^b \pm 0,003$

(Média  $\pm$  EP - A mesma letra indica não haver diferenças significativas a 95% entre amostras para cada parâmetro)

\*\* Tempo de armazenamento entre os TTMs e o processamento das polpas

## 7.2 Branqueamento

Com o branqueamento pretende-se inactivar as enzimas responsáveis pelo escurecimento dos frutos, sem no entanto conferir sabor a cozido à polpa. Recorreu-se ao teste da peroxidase para confirmar a inactivação das enzimas. A enzima peroxidase é muito termoresistente (Martins, 1992), pelo que se estiver inactiva também as outras enzimas como a polifenoloxidase (principal responsável pela alteração da cor) o estão.

Para a optimização do binómio t/T efectuaram-se diversos testes. Segundo Clemente *et al* (2001), a enzima polifenoloxidase na maçã Fuji é inactivada quando exposta a tratamentos de 75 °C durante 10 minutos, partiu-se assim deste binómio para os diversos testes e por experimentação foram-se testando outros binómios.

Por forma a conseguir perceber se o branqueamento conferiu sabor a cozido às polpas, estas foram qualificadas sensorialmente, tendo sido pedido para identificar se o sabor a cozido estava ou não presente.

Às polpas de maçã, limão, amora e farelo, cuja trituração foi efectuada a quente, com o objectivo de inactivação enzimática, foi posteriormente adicionado ananás (3%) a fim de potenciar o efeito protector da bromelaína no que respeita ao escurecimento. A adição de ananás foi efectuada após arrefecimento ( $T \approx 40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) das polpas para evitar inactivação deste complexo enzimático cuja actividade proteolítica se pretende testar.

### 7.2.1 Materiais e Métodos

---

Recorreu-se a um moinho de facas com uma velocidade de 4400 rpm e com sistema de aquecimento controlado para a realização dos testes de branqueamento.

A trituração foi efectuada à temperatura pré-estabelecida e o tempo do choque térmico foi contado a partir do momento em que as polpas estabilizaram a temperatura.

O branqueamento das polpas realizou-se triturando as maçãs com limão de acordo com os seguintes binómios t/T:

- 10 min / 75 °C
- 5 min / 80 °C
- 1 min / 80 °C
- 30 s / 100 °C
- 30 s / 70 °C

Para verificar a actividade da peroxidase utilizou-se uma solução de guaiacol a 1%,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , água destilada, pipetas e copos de laboratório.

Para o teste da enzima peroxidase colocou-se polpa tratada num copo de 50 ml, adicionada de 5 ml de água destilada, 1 ml de guaiacol a 1 % e 1 ml de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e observou-se a reacção (positiva quando desenvolve uma coloração castanho-avermelhada e negativa quando não desenvolve coloração).

A adição de ananás foi efectuada depois da polpa previamente arrefecida ( $T \approx 40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) e observou-se o seu efeito na cor ao longo de 15 minutos. A adição deste fruto foi efectuada apenas na polpa cujo binómio tempo/temperatura de branqueamento mostrou resultados mais favoráveis.

### 7.2.2 Apresentação e Discussão dos Resultados

Quadro 4 – Resultados observados para as polpas tratadas com diferentes binómios (T/t) de branqueamento.

<b>Binómio (tempo/temperatura)</b>	<b>Sabor a Cozido</b>	<b>Teste da Peroxidase</b>	<b>Cor ao fim 15 minutos</b>
<b>10 min / 75 °C</b>	Presente	Negativo	Clara
<b>5 min / 80 °C</b>	Presente	Negativo	Clara
<b>1 min / 80 °C Sem incorporação de ananás</b>	Ausente	Negativo	Ligeiramente escura
<b>1 min / 80 °C Com incorporação de 3% ananás</b>	Ausente	Negativo	Clara
<b>30 s / 100 °C</b>	Presente	Negativo	Escura
<b>30 s / 70 °C</b>	Ausente	Positivo	Escura

De acordo com o Quadro 4 optou-se pelo tratamento de binómio 1 minuto a 80 °C com incorporação de ananás, pois foi o que apresentou melhores resultados, visto que se conseguiu inactivar a enzima peroxidase, sem conferir sabor a cozido à polpa.

## 7.3 Considerações Intercalares

No que respeita aos TTM's, conclui-se serem efectivos no incremento do teor de fenóis totais do fruto, contribuindo no entanto para um escurecimento mais pronunciado das polpas produzidas. Considerando que o objectivo do presente estudo se centra na obtenção de polpas com elevada bioactividade, o melhor binómio tempo/temperatura para o TTM aplicado às maçãs foi de 50 °C durante 5 minutos com um tempo entre a aplicação do TTM e o processamento das polpas de 24 horas.

Na determinação do melhor binómio tempo/temperatura para o branqueamento, concluiu-se que um tratamento de 80 °C durante 1 minuto implica inactivação enzimática sem conferir sabor a cozido e que a adição de 3 % de ananás confere uma melhoria na estabilização da cor da polpa.

---

## 8 Desenvolvimento das Polpas com Integração de Tratamentos Físicos

---

Após ter estudado o efeito dos TTM's e do branqueamento isoladamente, procedeu-se ao estudo do efeito integrado dos tratamentos.

Todas as polpas processadas nas condições assinaladas no quadro 5, foram congeladas a -18°C e analisadas ao longo de 36 dias.

### 8.1 Materiais e Métodos

#### 8.1.1 Processamento das Polpas

Como se indica no Quadro 5, foram produzidas polpas sem qualquer tratamento, polpas com frutos submetidos a TTM's, polpas que sofreram branqueamento e polpas cujos frutos foram submetidos a TTM's e que sofreram branqueamento.

Quadro 5 – Condições de processamento de polpas de base maçã.

Amostra	TTM (50 °C/5'/24 h)	Branqueamento (80 °C/1 min)
M		
MT	✓	
MB		✓
MTB	✓	✓

Depois do seu processamento as polpas foram embaladas em sacos de polietileno e colocadas numa arca congeladora a -18°C.

O controlo analítico foi efectuado no dia a seguir ao processamento (dia 1), 8 dias após o processamento (dia 8), 18 dias após o processamento (dia 18), 28 dias após o processamento (dia 28) e finalmente 36 dias após o processamento (dia 36) (Figura 18).

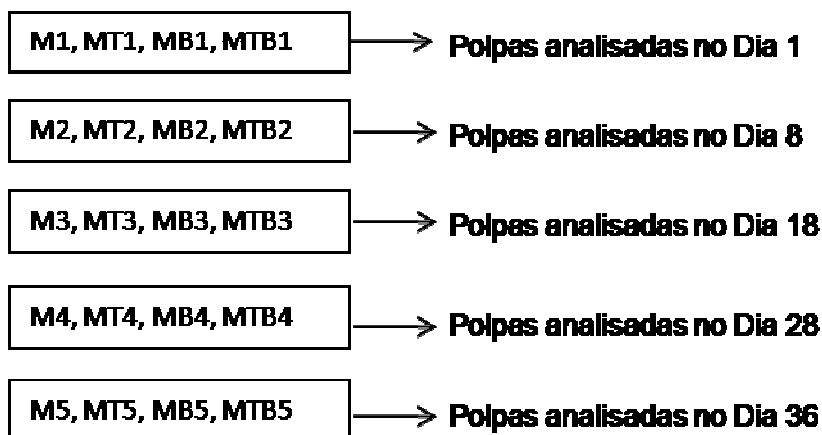


Figura 18- Codificação das amostras analisadas.

### 8.1.2 Determinações Químicas:

---

As determinações de pH, TSS, humidade e fenóis totais foram efectuadas como descrito no ponto 6.2.2.

#### Determinação do $a_w$

A determinação do  $a_w$  foi realizada por higrometria. Para tal foi usado um higrómetro Rotronic-Hygroscop DT. Todas as determinações foram efectuadas em duplicado.

#### Determinação do teor em Ácido Ascórbico

A determinação do ácido ascórbico foi feita por HPLC e as amostras foram preparadas de acordo com o método de Romero e Vasquez (1992).

### 8.1.3 Determinação da Cor CIELab:

---

A determinação da cor foi efectuada como descrito no ponto 6.2.3 e os seus resultados foram submetidos a uma análise de variância ANOVA/MANOVA, teste de Fisher pelo software STATISTICA 6.1.

A análise sensorial decorreu nas condições descritas no ponto 6.2.4.

Nestas sessões foi pedido a cada provador que avaliasse as amostras relativamente aos parâmetros cor da polpa, cor a frutos vermelhos, gosto a maçã, doce, acidez e apreciação global, conforme ficha de prova em Anexo 9.

O painel foi constituído por 10 provadores com idades entre 17 e 78 anos de idade.

Os resultados foram submetidos à mesma análise de variância realizada para os resultados da cor.

## 8.2 Apresentação e Discussão dos Resultados

Apresentam-se nos Anexos 5 e 6 os quadros com os valores de todas as determinações efectuadas.

### 8.2.1 Determinações Químicas

#### pH

Os valores de pH das diferentes amostras e nos diferentes dias de análise estão apresentadas na Figura 19.

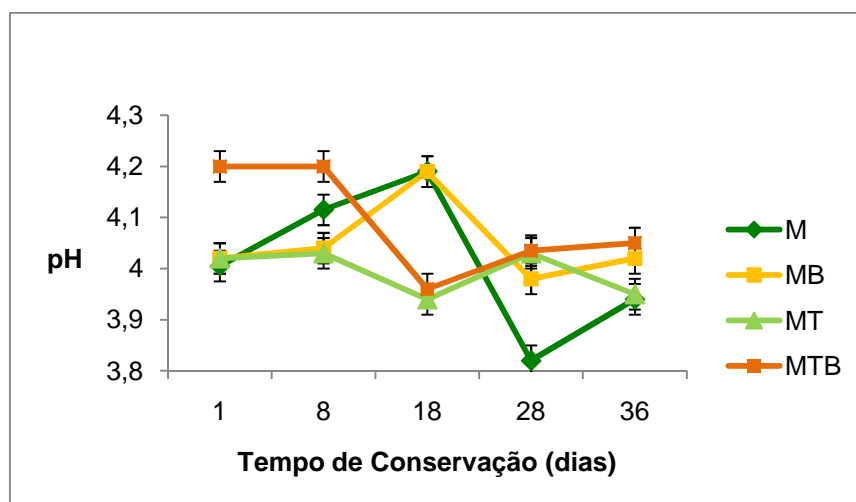


Figura 19 – Valores de pH de polpa de base maçã ao longo dos 36 dias de conservação a -18°C. (barras de erro com erro padrão)

A análise da figura permite concluir que não se verificou grande variação nos valores de pH, quer entre amostras, quer ao longo do tempo. Todas as amostras apresentam valores de pH inferiores a 4,2 o que, sob o ponto de vista de segurança é importante, pois limita o desenvolvimento de microrganismos patogénicos.

## TSS

Os valores observados para o TSS estão apresentados na Figura 20

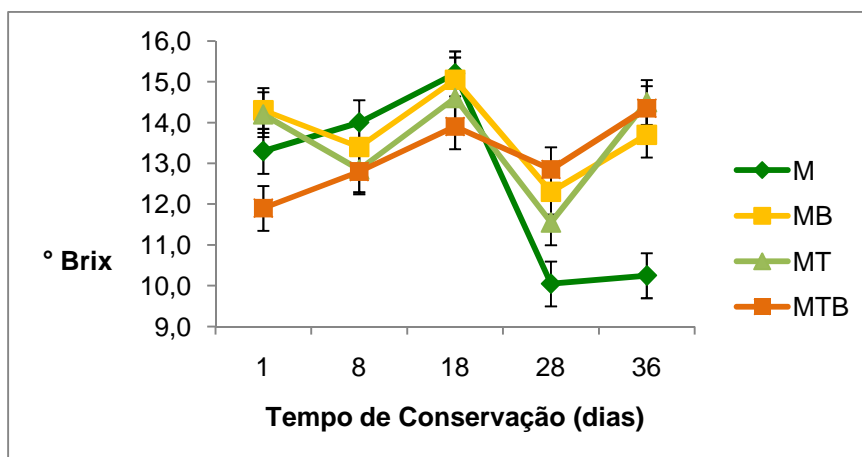


Figura 20- Valores do Teor de Sólidos Solúveis de polpa de base maçã ao longo do tempo de congelamento a -18°C. (barras de erro com erro padrão)

Como se pode observar na Figura 20 o TSS das amostras que sofreram TTM's e/ou branqueamento não registam grandes alterações durante o período de conservação testado. Contrariamente, a amostra controlo, que não sofreu qualquer tratamento térmico, apresentou uma descida pronunciada no teor de sólidos solúveis a partir do 18º dia de conservação. Atendendo a que as amostras estavam a -18 °C, não é de equacionar o consumo de sólidos solúveis por via microbiana ou fisiológica. Possivelmente os sólidos foram insolubilizados por complexação.

## Humidade

Os valores de Humidade para as diferentes amostras estão apresentados na Figura 21.

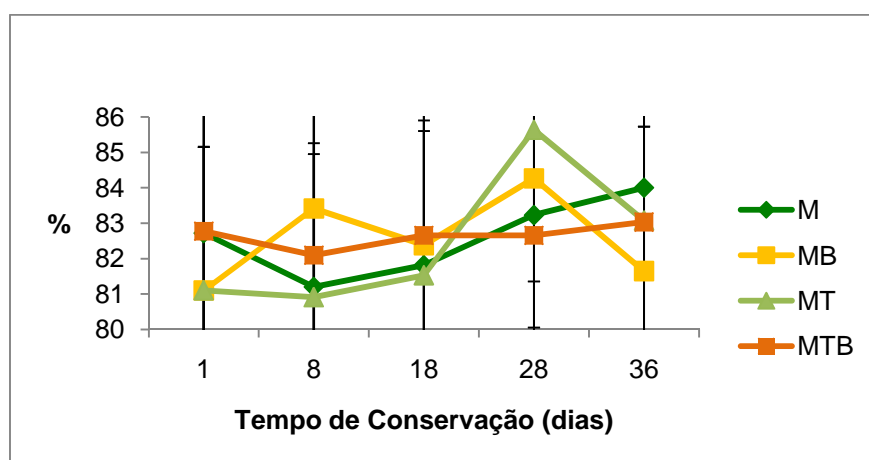


Figura 21- Evolução do teor de humidade de polpa de base de maçã com o tempo de conservação a -18 °C. (barras de erro com percentagem de 5 %)

A análise da Figura 21 permite concluir não se ter verificado desidratação ao longo do período de conservação testado, o que indica que a embalagem constitui uma barreira eficiente ao vapor de água.

$a_w$

Os valores de actividade de água estão apresentados na Figura 22.

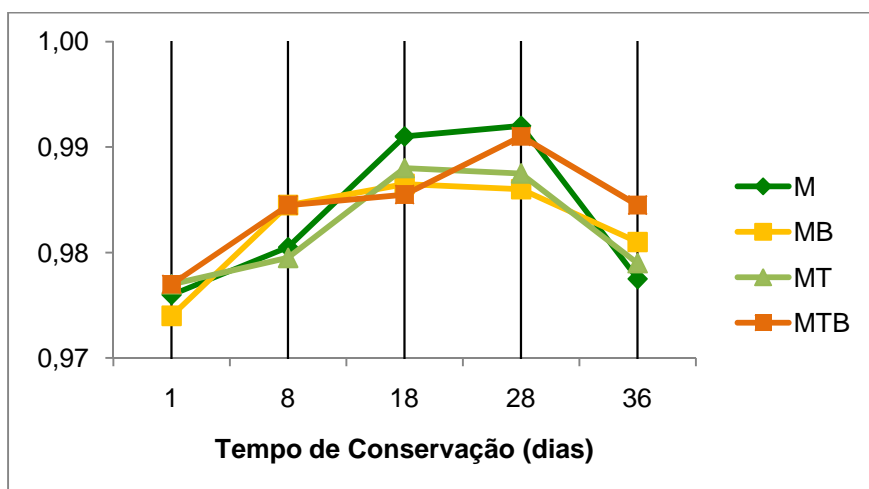


Figura 22 - Evolução da Actividade de água com o tempo de conservação. (barras de erro com erro padrão)

No gráfico da Figura 22 é possível verificar um aumento progressivo do  $a_w$  de todas as polpas até aos 18 dias de conservação a  $-18^{\circ}\text{C}$  no caso das polpas MB e MT e 28 dias no caso das polpas M e MTB. Este acréscimo pode ser consequência da quebra da estrutura celular dos tecidos. Segundo Fellows (2000), durante uma congelação lenta, os cristais de gelo crescem nos espaços intercelulares, deformando e rompendo as paredes celulares das células adjacentes, provocando desidratação celular e danos permanentes. Após o acréscimo do  $a_w$ , verifica-se um decréscimo que se pode dever a rearranjos ou recristalizações das estruturas celulares. Muitas destas recristalizações devem-se a flutuações na temperatura de congelação (Fellows, 2000).



## Fenóis Totais

Os valores de fenóis totais observados para as diferentes amostras estão apresentados na Figura 23.

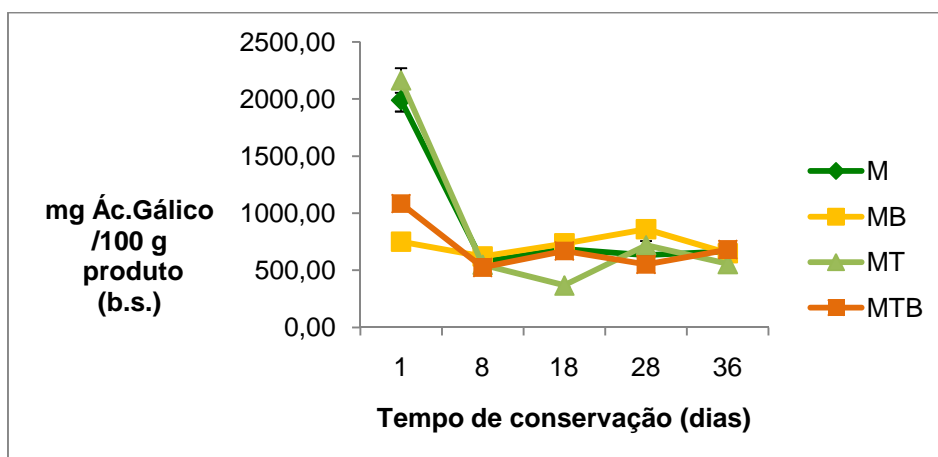


Figura 23 - Evolução do teor de fenóis totais com o tempo de conservação. (barras de erro com percentagem de 5 %)

Através da análise do gráfico da Figura 23, verificou-se que a polpa que sofreu pré-tratamento térmico moderado possui um teor de fenóis totais ligeiramente superior ao da polpa que não sofreu nenhum tipo de tratamento. No entanto, após 8 dias de conservação, verificou-se um decréscimo do teor de fenóis totais bastante acentuado em ambas as polpas. Nas polpas sujeitas a branqueamento (com e sem pré-tratamento térmico moderado), o teor de fenóis é bastante inferior às polpas que não sofreram este tipo de tratamento. A análise dos resultados permite concluir que as condições de conservação não se revelaram eficazes no que respeita à conservação do teor inicial de fenóis.

O branqueamento implicou descida do teor inicial de fenóis, no entanto, mostrou-se mais eficaz na sua preservação ao longo do tempo de conservação, talvez por destruir parte das enzimas responsáveis pela degradação dos compostos fenólicos, como a PPO (Rossi, *et al.*, 2003).

## Ácido Ascórbico

Os teores de ácido ascórbico determinados nas diferentes amostras ao longo do tempo estão representados na Figura 24.

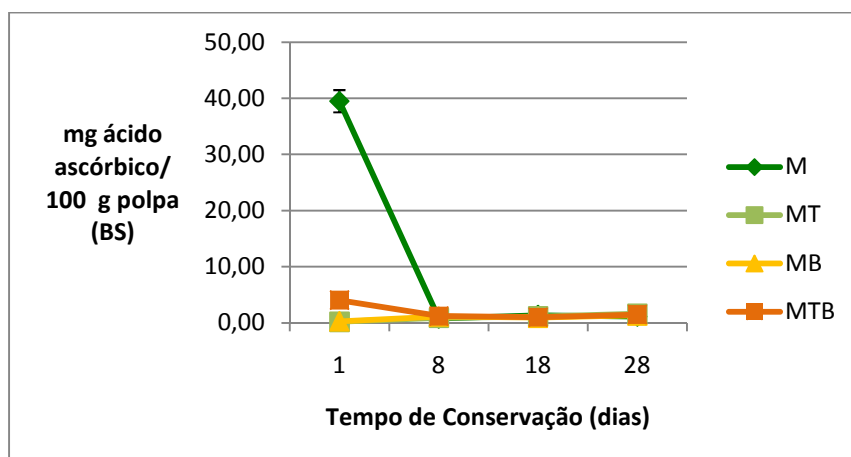


Figura 24- Evolução do teor de ácido ascórbico com o tempo de conservação. (barras de erro com percentagem de 5 %)

Pela análise da Figura 24 é possível constatar a elevada termolabilidade do ácido ascórbico, dado que todas as amostras que sofreram tratamento revelaram um teor muito inferior em ácido ascórbico, comparando com a amostra de controlo (M). Estes resultados seriam previsíveis, dado que o ácido ascórbico é muito sensível quer ao calor (branqueamento), quer a outros fenómenos que se verificaram durante o processo de conservação a -18 °C que, como verificado anteriormente, também não foi eficaz na manutenção da componente fenólica.

## 8.2.2 Determinação da cor CIELab

Os valores dos parâmetros  $L^*$ ,  $c^*$  e  $h^\circ$  da cor estão apresentados na Figura 25.

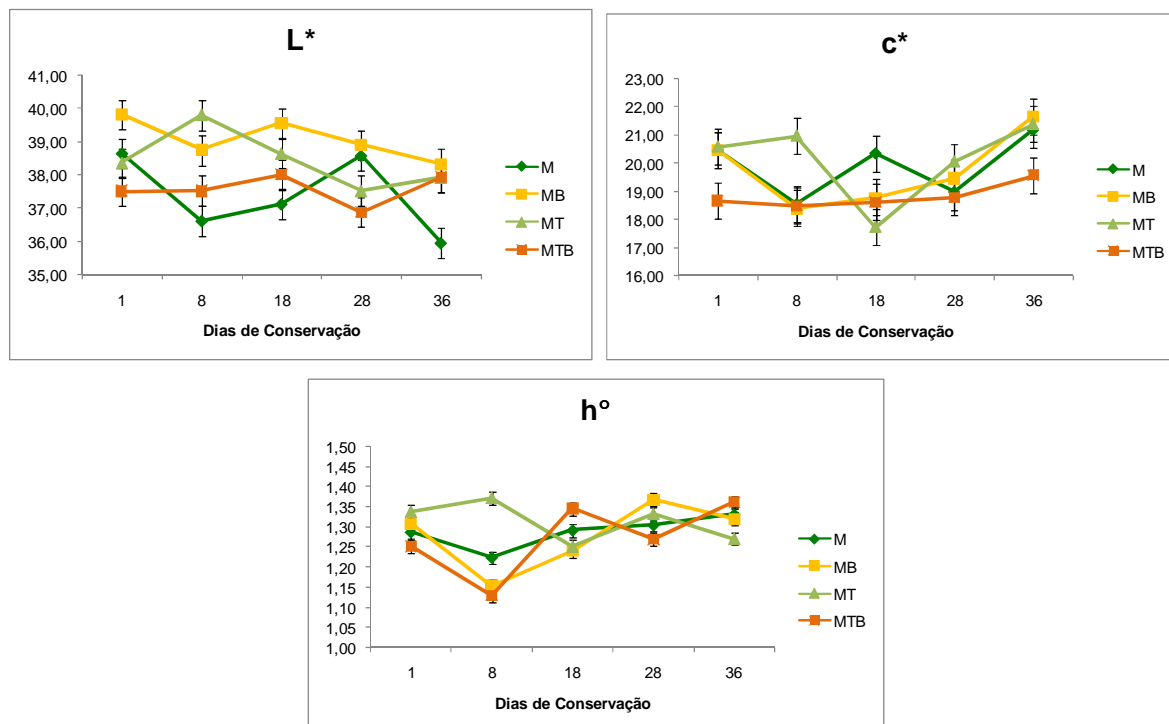


Figura 25 - Evolução dos parâmetros  $L^*$ ,  $c^*$  e  $h^\circ$  da cor com o tempo de congelamento. (barras de erro com percentagem de 5 %)

Os resultados das componentes  $L^*$ ,  $c^*$  e  $h^\circ$  da cor, foram submetidos a análise de variância ANOVA/MANOVA, teste de Fisher pelo software STATISTICA 6.1.

Analisando o gráfico de evolução do parâmetro  $L^*$  da Figura 25 verifica-se que a amostra MB obteve valores de  $L^*$  superiores ao das restantes amostras. As amostras que sofreram TTM's (MT e MTB), inicialmente apresentaram valores de  $L^*$  inferiores, no entanto após os 36 dias de congelamento evidenciaram a manutenção dos valores deste parâmetro, pois os valores iniciais (dia1) e com 36 dias de conservação não diferiram significativamente ( $p>0,05$ ), contrariamente à amostra que não sofreu nenhum tipo de tratamento térmico. Os parâmetros  $c^*$  e  $h^\circ$  da cor não revelaram variação significativa ao longo do tempo de conservação.

Pelo exposto verifica-se, e como seria de esperar, que o branqueamento foi o tratamento mais eficaz no retardamento do escurecimento das polpas analisadas. Inicialmente as amostras MT e MTB apresentaram um maior escurecimento, quando comparadas com a amostra de controlo (M), no entanto, também apresentaram uma melhor manutenção da cor ao longo do tempo de conservação.

Os resultados das pontuações atribuídas pelos provadores relativamente aos parâmetros Cor da Polpa, Cor a Frutos Vermelhos, Gosto a Maçã, Doce, Acidez e Apreciação Global estão apresentados na Figura 26.

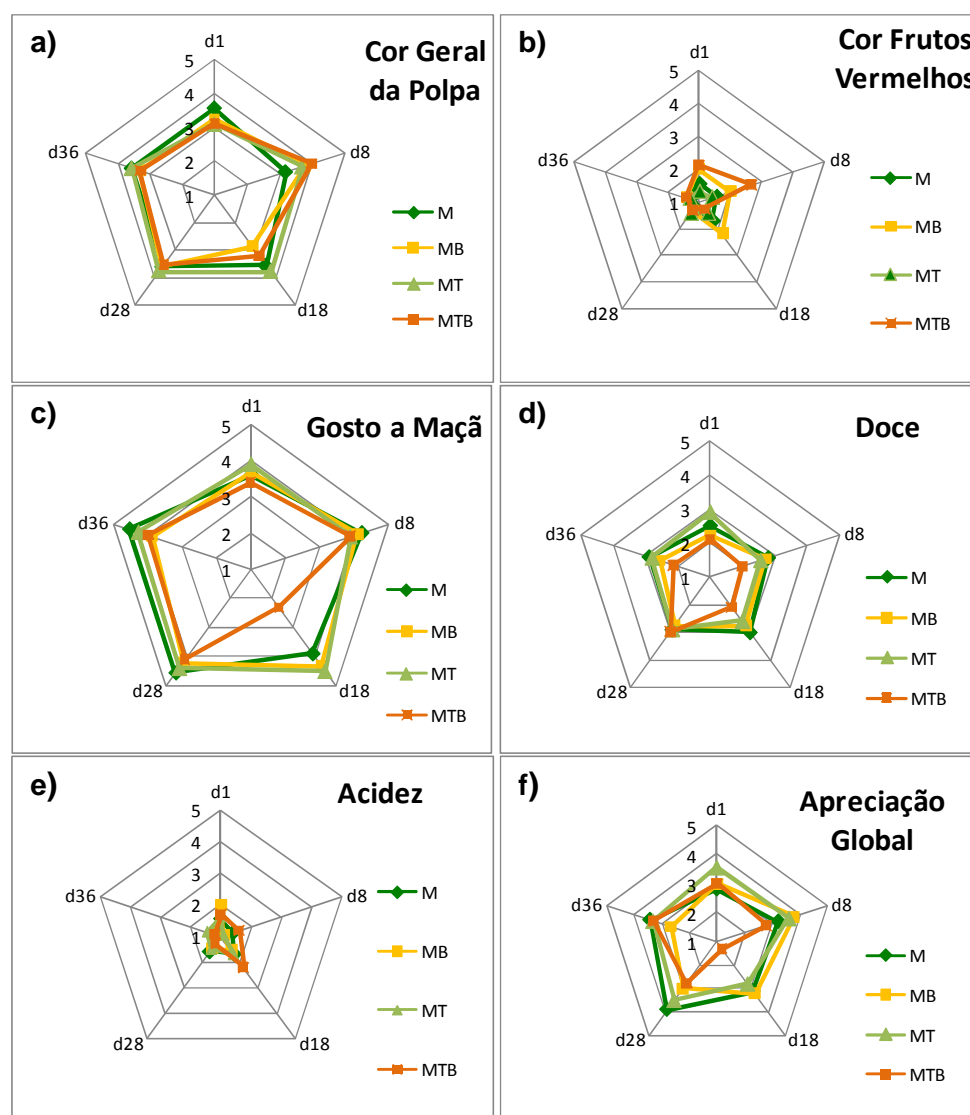


Figura 26- Pontuações atribuídas pelos provadores relativamente aos parâmetros Cor da Polpa (a), Cor a Frutos Vermelhos (b), Gosto a Maçã (c), Doce (d), Acidez (e) e Apreciação Global (f) ao longo do tempo de conservação.

Os resultados da análise sensorial, foram submetidos a análise de variância ANOVA/MANOVA, teste de Fisher pelo software STATISTICA 6.1.

Quando avaliado o parâmetro cor geral da polpa ao longo dos 36 dias de conservação, não se verificaram diferenças significativas ( $p > 0,05$ ), apesar de no dia 18 se

ter verificado que a amostra branqueada (MB) se revelou mais clara, enquanto que a amostra com TTM (MT) foi a que se mostrou mais escura.

Já em relação ao parâmetro cor a frutos vermelhos, destacou-se a amostra com os dois tipos de tratamentos térmicos até ao 8.º dia, seguida da amostra branqueada (MB), que obtiveram pontuações mais elevadas na percepção da cor a frutos vermelhos.

Não houve diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) no parâmetro acidez ao longo do tempo de congelação entre nenhuma das amostras.

No parâmetro gosto a maçã, também não se verificaram diferenças significativas ( $p > 0,05$ ), excepto no dia 18 em que a amostra sujeita aos dois tratamentos térmicos, obteve pontuações muito inferiores a todas as outras. Apesar de não terem ocorrido diferenças significativas, é notório que as amostras que obtiveram melhores resultados neste parâmetro foram as que não sofreram nenhum tipo de tratamento (M) e as amostras sujeitas a TTM's (MT).

Em relação ao sabor doce, no primeiro dia de análise a amostra MT é significativamente diferente ( $p < 0,05$ ) das amostras M e MTB, mostrando-se ser a amostra mais doce. Após 8 dias de congelação a amostra MTB mostrou ser significativamente diferente ( $p < 0,05$ ) das restantes, por ser a menos doce. No último ponto de análise, ou seja, após 36 dias de congelação a amostra MTB obteve mais uma vez pontuações inferiores às restantes amostras.

No primeiro dia de conservação, a amostra M diferiu significativamente ( $p < 0,05$ ) da amostra MT, na apreciação global, sendo esta última a que apresentou melhores resultados e a M a que apresentou piores resultados. No entanto, após 8 e 18 dias de congelação a amostra MTB revelou ser significativamente diferente das restantes, pois foi a amostra que menos agradou aos provadores, tendo alguns, identificado a presença de sabor amargo. Apesar destes resultados, no último dia de análise (36 dias de congelação) não se identificaram diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre as amostras, relativamente ao parâmetro apreciação global.

### 8.3 Considerações Intercalares

---

Tendo em conta os resultados das determinações químicas, físicas e sensoriais acima referidos, tornou-se possível perceber que o processo de conservação utilizado não se mostrou eficiente na manutenção da componente bioactiva das polpas de fruta. O teor em ácido ascórbico diminuiu abruptamente apenas 8 dias após o início da congelação, assim como o teor de fenóis totais. O branqueamento de 80 °C durante 1 minuto, foi o tratamento que se mostrou mais eficaz no retardamento do escurecimento, no entanto, ao longo do tempo de conservação, não foi tão eficaz quanto verificado inicialmente. A inactivação das enzimas foi apenas parcial, logo houve necessidade de reajustar o binómio tempo/temperatura de branqueamento.

## **8.4 Reajuste do binómio Tempo/Temperatura de Branqueamento**

---

Depois da análise dos resultados da fase de desenvolvimento das polpas de fruta, principalmente dos resultados da cor, em que foi possível verificar que as polpas escureceram excessivamente, chegou-se à conclusão de que seria necessário encontrar um binómio de tempo/temperatura mais eficaz para o branqueamento, pois o binómio utilizado não foi eficaz na inactivação total da PPO. Assim, foram realizados outros testes de branqueamento, em que se manteve a temperatura de 80 °C mas durante 2 minutos (amostra M2) e 4 minutos (amostra M1).

Depois da realização do branqueamento, realizou-se o teste da peroxidase e determinou-se a cor objectiva ao longo de vários dias. As determinações foram realizadas logo após o processamento, 40 minutos, 70 minutos, 48 horas e 216 horas (9 dias) após o processamento. Após o processamento foi também efectuada uma análise sensorial para verificar a presença de sabor a cozido. Para se fazer uma comparação da eficiência do branqueamento, realizou-se um ensaio de controlo, em que apenas se processou polpa de maçã sem nenhum tipo de tratamento térmico. Para provocar condições extremas de conservação, as polpas analisadas nesta fase não foram congeladas. Conservaram-se apenas numa câmara refrigerada a 4 °C, em placas de petri expostas ao ar.

### **8.4.1 Apresentação e Discussão dos Resultados**

---

Relativamente ao sabor a cozido, na amostra M1 estava presente, mas na amostra M2 não foi detectado.

O teste da peroxidase apresentou resultados negativos para ambas as amostras ao longo dos dias de análise.

Os resultados das determinações dos parâmetros  $L^*$ ,  $c^*$  e  $h^\circ$  da cor apresentam-se na Figura 27, Figura 28 e Figura 29, respectivamente e no Anexo 7.

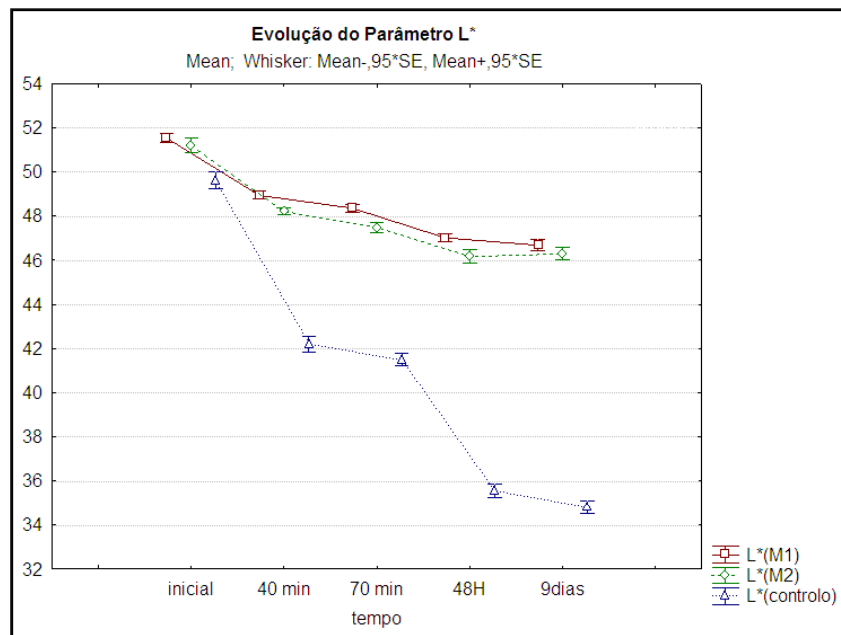


Figura 27 – Evolução do parâmetro L\* ao longo do tempo para as amostras M1, M2 e Amostra de Controle.

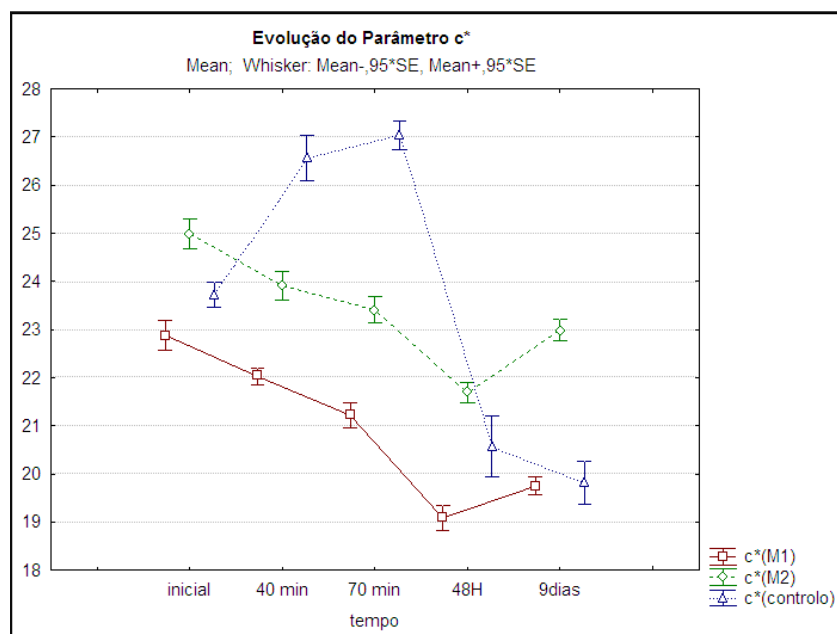


Figura 28 – Evolução do parâmetro c\* ao longo do tempo para as amostras M1, M2 e Amostra de Controle.



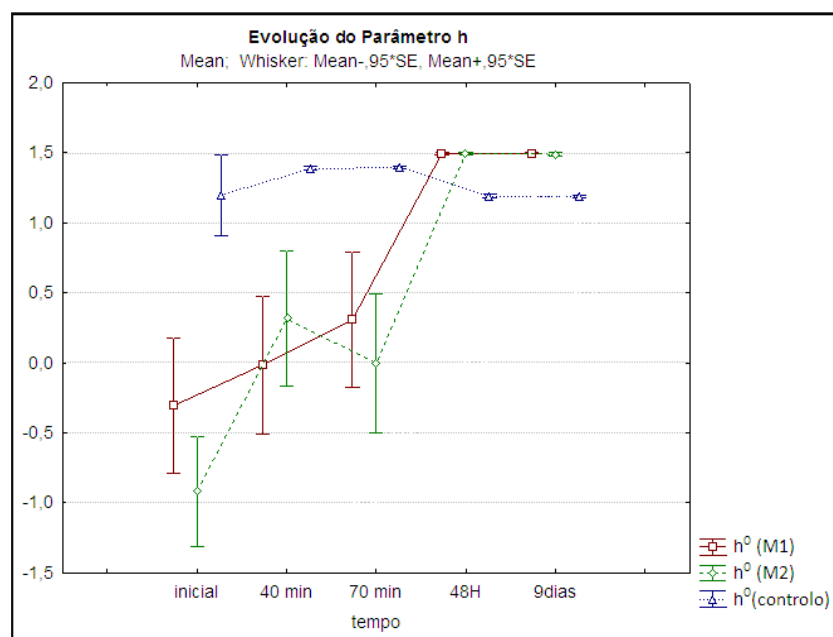


FIGURA 29 – Evolução do parâmetro  $h^\circ$  ao longo do tempo para as amostras M1, M2 e Amostra de Controlo.

Verificou-se na amostra controlo um decréscimo abrupto da luminosidade ( $L^*$ ) ao longo dos 9 dias de conservação (Figura 27), contrariamente às amostras branqueadas, cujo valor de  $L^*$  diminuiu ligeiramente no mesmo período de tempo.

Foi notória a eficácia de ambos os binómios tempo / temperatura de branqueamento usados neste ensaio.

Comparando os valores do parâmetro  $L^*$  (Figura 27), com os valores do observados na fase 7.2 (Figura 25), verificou-se uma maior eficiência na manutenção da cor das polpas deste último, na medida em que no primeiro branqueamento efectuado ( $80^\circ\text{C} / 1 \text{ min}$ ) os valores de  $L^*$  tinham um valor média  $\pm$  desvio padrão de  $L^* = 39,06 \pm 0,61$ , e no presente estudo ( $80^\circ\text{C} / 2 \text{ min}$  e  $80^\circ\text{C} / 4 \text{ min}$ ) os valores de  $L^*$  tiveram um valor médio  $\pm$  desvio padrão de  $L^* = 48,51 \pm 1,87$   $L^* = 47,87 \pm 2,02$  respectivamente. O parâmetro  $L^*$  (luminosidade) varia de 0 (preto) a 100 (branco), logo os branqueamentos de 2 e 4 minutos foram mais eficientes pois permitiram a manutenção dos valores de  $L$  a níveis mais elevados.

Relativamente ao branqueamento de 2 minutos e ao branqueamento de 4 minutos, foi possível verificar que as diferenças observadas nos parâmetros da cor não foram significativas entre si ( $p > 0,05$ ) (Figura 27 e Figura 29).

Pelo exposto, é de concluir que o branqueamento no caso presente deverá ser efectuado a 80 °C durante 2 minutos, pois permite uma inactivação enzimática eficaz sem no entanto implicar sabor a cozido.

---

## 9 Conclusões e Perspectivas Futuras

---

Embora hoje em dia seja frequente encontrar polpas de fruta a serem comercializadas no nosso mercado, o ponto central do presente estudo centrou-se no desenvolvimento de polpas de fruta com uma forte componente bioactiva e estabilizadas por processos meramente físicos, sem adição de qualquer tipo de substância química de síntese. Além dos estudos de formulação da polpa de fruta, testaram-se os tratamentos térmicos moderados como forma de stress abiótico controlado, no sentido de determinar qual o tratamento mais eficaz na estabilização enzimática das polpas

Através deste estudo, foi possível perceber a complexidade que envolve o desenvolvimento de um novo produto, pelas diversas etapas que o constituem.

Depois de todas as determinações realizadas ao longo do trabalho foi possível concluir que:

- A formulação ideal das polpas à base de maçã do ponto de vista químico, físico e sensorial corresponde a uma adição de 1,5 % de farelo de trigo, 3 % de amora, 3 % de ananás e 5 % de limão.
- A incorporação de farelo de trigo contribui para o enriquecimento das polpas em fibra insolúvel, principalmente em hemicelulose e em minerais, nomeadamente K.
- O binómio temperatura/tempo mais eficaz, para o TTM aplicado às maçãs inteiras foi de 50 °C durante 5 minutos, com um tempo entre a aplicação do TTM e o processamento das polpas de 24 horas. O binómio referido levou à síntese de fenóis, no entanto o processo de conservação utilizado, não se revelou eficaz na manutenção dos mesmos ao longo do tempo de conservação. De referir ainda, que em frutos como a maçã, este tipo de tratamentos deverá ser devidamente equacionado na medida em que altera naturalmente alguns parâmetros sensoriais.
- O binómio de temperatura/tempo de branqueamento, que se revelou mais eficaz foi o tratamento de 80 °C durante 2 minutos, pois implica inactivação enzimática, sem conferir sabor a cozido às polpas.
- A congelação a -18 °C, como único processo de conservação, não se revelou eficaz na manutenção dos compostos bioactivos, nomeadamente do teor de

fenóis e de ácido ascórbico. O processo de congelação pode ter sido lento, dado ter sido efectuado numa câmara sem circulação forçada de ar. Pelo exposto pode ter ocorrido alguma perda de integridade celular.

Para uma caracterização mais completa das polpas desenvolvidas será importante proceder a uma caracterização mais exaustiva, nomeadamente a determinação de glúcidos e do perfil fenólico e verificar a sua evolução ao longo do tempo de conservação.

No que respeita o processo de conservação das polpas, será de procurar alternativas. Assim, a congelação deverá ser efectuada de forma mais rápida e a temperatura mantida a níveis inferiores a -18 °C. Outro processo a ter em conta em estudos futuros é a utilização das altas pressões hidrostáticas (HHP) na manutenção das características originais deste produto.

---

## 10 Bibliografia

---

**Allen, J.C. e Joseph, G. 1985.** *Deterioration of Milk on Storage. Journal of Dairy Research.* Vol. 52, 469-87.

**Almeida, D.P.F. e Pintado, M. 2007.** *Caracterização Nutritiva e Funcional de Variedades de Maçã de Alcobaça.* Porto : Escola Superior de Biotecnologia, Universidade Católica Portuguesa.

**Amiot, J.M., et al. 1997.** *Phenolic Compounds and Oxidative Mechanisms in Fruit and Vegetables.* [autor do livro] F.A.T., Robins,R. J. Barberán. *Phytochemistry of Fruit and Vegetables.* New York : Oxford University Press.

**Awad, M.A., de Jaguer, A. e Van Westing, L.M. 2000.** *Flavonoid and Chlorogenic Acid Concentrations in Apple Fruit: Characterisation of Variation. Scientia Horticulturae.* Vol. 83, 249-263.

**Bartley, I.M. e Knee, M. 1982.** *The Chemistry of Textural Changes in Fruit During Storage. Food Chemistry.* 9, 1982, 47-58.

**Bender, R.J., Seibert, E. e Lunardi, R. 2002.** *Tolerância da Maçã "Fugi" ao Tratamento Térmico Moderado por Imersão em Água Quente. Ciência e Agrotecnologia.* Vol. 26.

**Britton, G. e Méndez, D.H. 1997.** *Carotenoids and Colour in Fruit and Vegetables.* [autor do livro] F.A., Robins, R.J. Tomás-Barberán. *Phytochemistry of Fruit and Vegetables.* New York : Oxford Science Publications.

**Burns, J., et al. 2001.** *Extraction of Phenolics and Changes in Antioxidant Activity of Red Wines during Vinification. Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 12, 2001, Vol. 49, 5797-5808.

**Campos, L.S. 2002.** *Entender a Bioquímica.* 3ª. Lisboa : Escolar Editora.

**Capitão, C.M. e Silva, L.M. 2008.** *Desenvolvimento de Novos Produtos. Aulas de Inovação e Empreendedorismo.* s.l. : UTL/ISA.

**Cisneros-Zevallos, L. 2003.** *The Use of Controlled Postharvest Abiotic Stresses as a Tool for Enhancing the Nutraceutical Content and Adding-Value of Fresh Fruits and Vegetables. Journal of Food Science.* 5.Vol. 68, 1560-1565.

**Clemente, E. 1993.** *The Characterization of Isoperoxidases from Orange. Food Science.* 1993, 202.

- Clemente, E., Marangoni, F. e Valderrama, P. 2001.** *Efeito do Tratamento Térmico Sobre a Actividade de Peroxidase (POD) e Polifenoloxidase (PPO) em Maçã (Mallus comunis).* *Ciência e Tecnologia dos Alimentos.* Vol. 21.
- Coxam, V., Delzeme, N. e Roberfroid, M. 2008.** *Aliments fonctionnels.* 2.<sup>a</sup>. Paris : Lavoisier.
- Demming-Adams, B., Gilmore, A.M. e Adams, W.W. 1996.** *In Vivo Functions of Carotenoids in Higher Plants.* *FASEB Journal.* 10, 403-412.
- Dogan, S. e Dogan, M. 2004.** *Determination of Kinetic Properties of Polyphenol Oxidase from Thymus (Thymus longicaullis subsp. chaubardii var. chaubardii).* *Food Chemistry.* 88, 69-77.
- Duarte, F. 2008.** *A Política de Produto.* Aulas de Marketing de Produtos Alimentares. s.l. : UTL/ISA.
- Fellows, P. 2000.** *Food Processing Technology - Principles and Practice.* 2.<sup>a</sup>. England : Woodhead Publishing Limited.
- Feng, Y. e McDonald, C.E. 1989.** Comparison of Flavonoids in Four Classes of Wheat. *Cereal Chemistry.* 1989, Vol. 66, 516-518.
- Gry, J., et al. 2007.** EuroFIR-BASIS - A Combined Composition and Biological Activity Database for Bioactive Compounds in Plant-Based Food. *Trends in Food Science and Technology.* 18, 434-444.
- Guillon, F., Champ, M. e Thibault, J.F. 2003.** *Dietary Fibre Functional Products.* [autor do livro] G.R. Gibson e C.M. Williams. *Functional Foods - concept to product.* England : Woodhead Publishing Limited, 2003.
- Instituto Nacional de Saúde, Centro de Estudos de Nutrição. 1987.** *Alimentação Racional e Nutrição.* 3.<sup>a</sup>. Lisboa.
- Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge. 2006.** *Tabela da Composição de Alimentos.*
- Jarvis, M.C., Forsyth, W. e Duncan, H.J. 1988.** A Survey of the Pectin Content of Nonlignified Monocot Cell Walls. *Plant Physiology.* 88, 1988, Vol. 2, 309-314.
- Johnson, I.T. 2001.** *Antioxidants and Antitumour Properties.* [autor do livro] J., Yanishlieva, N., Gordon, M. Pokorny. *Antioxidants in Food - Practical Applications.* s.l. : Woodhead Publishing Limited.

- Ke, D. e Saltveit, M.E. 1989.** *Wound-Induced Ethylene Production, Phenolic Metabolism and Susceptibility to Russet Spotting in Iceberg Lettuce.* *Physiologia Plantarum*. 76, 412-418.
- Luby, J.J. 2003.** *Taxonomic Classification and Brief History.* [autor do livro] D.C. Ferree e I.J. Warrington. *Apples - Botany, Production and Uses.* Cambridge : CABI Publishing.
- Martins, M.L. L. 1992.** *Inativação Térmica e Regeneração da Peroxidase de Feijão Verde - Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos.* Lisboa : UTL / ISA.
- Mazza, G. e Miniati, E. 1993.** *Anthocyanins in Fruits, Vegetables, and Grains.* s.l. : CRC Press.
- Méndez, D.H. e Mosquera, M.M.I. 2007.** *Bioaccessibility of Carotenes From Carrots: Effect of Cooking and Addition of Oil.* *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 8, 407-412.
- Oliveira, J. 2008.** *Gestão da Inovação e Desenvolvimento de Novos Produtos.* Seminário Desenvolvimento de Novos Produtos. SGS, Lisboa.
- O'Rourke, D. 2003.** *World Production, Trade, Consumption and Economic Outlook for apples.* [autor do livro] D.C. Ferree e I.J. Warrington. *Apples, Botany, Production and Uses.* Cambridge : CABI Publishing.
- Ramaswamy, H.S. e Chen, C.R. 2002.** *Maximising the Quality of Thermally Processed Fruits and Vegetables.* [autor do livro] Wim Jongen. *Fruit and Vegetable Processing - Improving Quality.* s.l. : Woodhead Publishing Ltd and CRC Press LLC, 2002.
- Rivero, R.M., et al. 2001.** *Resistance to Cold and Heat Stress: Accumulation of Phenolic Compounds in Tomato and Watermelon Plants.* *Plant Science*. 2001, Vol. 160, 315-321.
- Romero, R.A. e O.L.Vazquez. 1992.** *Comparision of Two HPLC methods for the Determination of Ascorbic Acid in Carica Pentagona.* *Sciences des Aliments*. 3, Vol. 12, 593-600.
- Rossi, M., et al. 2003.** *Effect os Fruit Blanching on Phenolics and Radical Scavenging Activity of Highbush Blueberry Juice.* *Food Research International*. Vol. 36, 999-1005.
- Saltveit, M.E. 2000.** *Fresh-cut Product Biology. Fresh-cut Products: Maintaining Quality and Safety.* University of California, Davis, US : s.n., 6th Annual Workshop on Fresh-cut Products.

- Saltveit, M.E. 2000.** *Wound Induced Changes in Phenolic Metabolism and Tissue Browning are Altered by Heat Shock.* *Postharvest Biology and Technology.* Vol. 21, 61-69.
- Sanoner, P., et al. 1999.** *Polyphenol Profiles of French Cider Apple Varieties (Malus domestica sp.).* *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* Vol. 47, 4847-4853.
- Saure, M.C. 1990.** *External Control of Antocyanin Formation in Apple.* *Scientia Horticulturae.* Vol. 42, 181-218.
- Sellapan, S. e Akoh, C.C. 2002.** *Flavonoids and Antioxidant Capacity of Georgia-grown Blueberries and Blackberries.* *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2002, Vol. 50, 2431-2438.
- Skrede, G. e Wrolstad, R.E. 2002.** *Flavonoids from Berries and Grapes.* [autor do livro] M., MAZZA, G., SHI, J. MAGUER. *Functional Foods.* USA : CRC Press, 2002, Vol. 2.
- Soares, S.E. 2002.** *Ácidos Fenólicos como Antioxidantes.* *Revista de Nutrição.* 1, Vol. 15, 71-81.
- Stahl, W. e Sies, H. 1999.** *Carotenoids: Ocurrence, Biochemical Activities, and Bioavailability.* [autor do livro] L., Hiramatsu, M., Yoshikawa, T. Packer. *Antioxidant Food Supplements in Human Health.* s.l. : Academic Press.
- Tomás-Barberán, F.A., et al. 1997.** *Early Wound-And Ethylene Induced Changes in Phenylpropanoid Metabolism in Harvested Lettuce.* *Journal of American Society of Horticultural Science.* Vol. 122, 399-404.
- Treutter, D. 2001.** *Biosynthesis of Phenolic Compounds and its Regulation in Apple.* *Plant Growth Regulation.* Vol. 42, 181-218.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B. e Lewis, B. A. 1991.** *Methods for Dietary Fibre, Neutral Detergent Fibre and Non Starch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition.* *J. Dairy Sci.* 1991, Vol. 74, 3583-3594.
- Vaughn, K.C., Lax, A.R. e Duke, S.O. 1988.** *Polyphenol Oxidase: the Chloroplast Oxidase with No Established Function.* *Physiologia Plantarum.* 72, 659-665.
- Wang, Q., Págan, J. e Shi, J. 2002.** *Pectin from Fruits.* [autor do livro] G., Maguer, M., Shi, J. Mazza. *Functional Foods.* s.l. : CRC Press, Vol. 2.



---

## 11 Cibergrafia

---

**COTHN. 2005.** *Relatório do Balanço da Campanha da Maçã 2005.* COTHN. [Online] 2005. [Citação: 27 de 05 de 2009.] <http://www.cothn.pt/portal/index.php?id=3616>.

**Denny, A. e Buttriss, J. 2007.** Synthesis Report No 4 - Plant Foods and Health:Focus on Plant Bioactives. *www.eurofir.net*. [Online] 2007. [Citação: 26 de 05 de 2009.] <http://www.eurofir.net/temp/PLANTspFOODSspANDspHEALTHspFOCUSspONspPLANTspBIOACTIVEShs1hs.pdf>

**FAO. 2008.** Codex Alimentarius Commission. *FAO/WHO*. [Online] 2008. [Citação: 22 de 06 de 2009.] <ftp://ftp.fao.org/codex/ccnfsdu30/nf3003be.pdf>.

**Feliciano, E.** Nutrição - Factos e Estudos científicos . *Características Nutricionais e Benefícios para a Saúde da Maçã de Alcobaça*. [Online] [Citação: 26 de 05 de 2009.] <http://www.maca.pt/custompages/showpage.aspx?pageid=51a0faf8-07ed-4927-97f7-e242b1570805&m=b52>.

**GPP. 2006.** Anuário Vegetal 2006. *GPP.Sistema de Informação de Mercados Agrícolas.Publicações anuais*. [Online] 2006. [Citação: 27 de 05 de 2009.] <http://www.gppaa.min-agricultura.pt/cot/>.

**GPP. 2007.** Diagnósticos Sectoriais / Maçã. *gppaa.min-agricultura*. [Online] 2007. [Citação: 27 de 05 de 2009.] <http://www.gppaa.min-agricultura.pt/pbl/Diagnosticos/>.

---

---

# Anexos

---

---

**ANEXO 1 - Peso das Diferentes Espécies Frutícolas na Produção Total de Frutos Frescos do Continente (GPP, 2007)**

	unidade: t				
	2002	2003	2004	Média 2002-04	Peso (%)
Ameixa	16 212	16 521	16 163	16 299	1,5
Cereja	19 870	14 044	16 058	16 657	1,6
Damasco	4 539	4 541	4 761	4 614	0,4
Figo	3 763	3 521	3 497	3 594	0,3
Kiwi	11 115	10 520	10 848	10 828	1,0
Maçã	297 640	282 214	272 832	284 229	26,5
Pêra	124 964	88 526	186 519	133 336	12,4
Pêssego	59 963	56 672	51 796	56 144	5,2
Laranja	269 614	267 064	240 463	259 047	24,1
Limão	10 761	12 468	11 360	11 530	1,1
Tângera	4 480	4 162	3 978	4 207	0,4
Tangerina	55 294	59 081	58 897	57 757	5,4
Toranja	269	258	258	262	0,0
Uva de Mesa	58 013	52 313	55 584	55 303	5,1
Castanha	31 227	33 109	30 893	31 743	3,0
Melão e Melloa *	87 529	91 897	91 897	90 441	8,4
Melancia *	24 585	26 949	26 949	26 161	2,4
Morango *	11 498	12 062	12 062	11 874	1,1
<b>Total Frutos Frescos</b>	<b>1 091 336</b>	<b>1 035 922</b>	<b>1 094 815</b>	<b>1 074 024</b>	<b>100,0</b>

Fonte: INE

Nota - Para o melão, meloa, melancia e morango foi considerado um valor da produção em 2004 igual ao de 2003, por não haver dados oficiais para estas espécies em 2004

\* Valores para Portugal (Continente, Açores e Madeira)

**ANEXO 2** – Desenho experimental e resultados - matriz com variáveis independentes codificadas e decodificadas e variáveis dependentes.

Variáveis Independentes							Variáveis Dependentes														
	Codificadas			Decodificadas			Determinações Químicas				Determinações Físicas			Análise Sensorial							
Amostra	A	B	C	Amora (%)	Farelo (%)	Limão (%)	pH	TSS	Umidade (%)	mg Ác. Gálico /100 g produto	L*	c*	h°	Cor	Cor F.V.	Gosto Geral	Acidez	Doce	Areado	Ap. Global	Intenção de Compra
1M	-1	-1	-1	0	0	0	3,88	16,15	82,20	153,03	41,15±2,87	24,80±2,44	1,32±0,03	4±2,28	1±2,41	3±1,52	1±0,61	3±2,05	2±1,84	3±2,01	3±1,08
2M	-1	-1	1	0	0	8	3,44	13,80	85,31	290,49	42,41±3,13	28,24±3,23	1,39±0,02	4±1,46	1±1,03	2±2,22	3±3,16	2±2,31	3±3,78	3±2,67	3±2,76
3M	-1	1	-1	0	2,5	0	3,98	12,70	84,77	280,92	40,98±3,55	25,35±6,07	1,40±0,04	4±2,01	1±1,63	2±1,84	1±1,81	3±2,18	3±2,55	3±1,18	3±1,13
4M	-1	1	1	0	2,5	8	3,77	12,90	85,89	506,48	42,78±2,05	26,80±2,87	1,45±0,02	2±0,81	1±0,72	2±2,06	3±3,39	1±1,39	3±3,38	3±1,47	2±1,85
5M	1	-1	-1	5	0	0	4,04	11,70	85,34	411,47	35,84±1,92	23,78±2,17	1,21±0,01	5±1,76	2±2,65	2±2,41	1±1,15	3±1,67	3±2,74	2±1,41	2±1,42
6M	1	1	1	5	0	8	3,65	12,60	85,27	528,17	38,83±3,61	28,98±2,73	1,04±0,06	4±0,78	4±1,41	2±2,14	3±0,83	2±1,63	4±1,13	3±1,96	3±1,93
7M	1	1	-1	5	2,5	0	3,93	13,50	84,12	356,68	33,13±1,30	22,18±2,20	1,15±0,02	5±1,23	2±2,93	2±1,28	1±1,05	3±3,10	3±3,71	2±1,93	3±1,58
8M	1	1	1	5	2,5	8	3,5	14,10	84,75	524,93	44,44±2,08	29,63±2,09	1,41±0,01	2±1,29	1±0,46	3±2,58	4±1,72	2±1,28	4±1,45	3±1,13	3±0,53
9M	-1	0	0	0	1,25	4	3,53	13,15	84,36	387,24	50,63±6,69	34,71±3,92	1,47±0,06	3±0,73	2±0,73	3±0,67	3±1,27	2±0,71	3±0,78	2±0,60	2±0,71
10M	1	0	0	5	1,25	4	3,58	12,50	84,05	387,09	46,61±7,26	22,59±3,97	1,16±0,14	4±0,88	2±0,71	4±0,83	2±0,67	2±0,60	3±0,92	2±1,00	2±0,97
11M	0	-1	0	2,5	0	4	3,41	10,50	84,40	463,94	43,49±8,83	27,54±6,72	0,98±0,10	3±0,67	3±0,73	3±0,97	3±0,71	2±0,71	3±0,88	3±0,67	3±0,44
12M	0	1	0	2,5	2,5	4	3,6	11,57	85,68	368,58	40,59±3,58	26,45±4,10	1,26±0,05	4±0,60	1±0,50	4±0,87	2±0,53	2±0,78	3±0,78	3±1,20	3±1,00
13M	0	0	-1	2,5	1,25	0	3,86	11,03	85,67	326,16	37,93±1,32	23,61±1,75	1,26±0,02	3±0,84	2±0,52	4±1,06	2±0,92	3±0,67	2±0,97	3±0,79	3±0,67
14M	0	0	1	2,5	1,25	8	3,48	9,05	84,68	467,69	40,57±3,81	30,74±3,01	1,25±0,06	3±0,52	2±1,03	4±1,07	3±0,82	2±0,82	3±0,88	2±1,07	2±0,79
15M (C)	0	0	0	2,5	1,25	4	3,64	13,70	83,24	344,57	35,86±3,13	24,11±3,59	1,07±0,05	4±0,53	2±0,88	3±0,79	3±0,67	2±0,52	2±0,84	3±0,85	2±0,74
16M (C)	0	0	0	2,5	1,25	4	3,72	13,10	82,81	290,97	40,57±4,87	29,31±5,41	1,31±0,05	4±0,57	1±0,32	4±0,67	2±0,52	3±0,48	3±0,84	3±0,82	3±0,94

(Média±DP)

**ANEXO 3-** Teores em fibra insolúvel, hemicelulose, celulose, cinza total e componente mineral da cinza de amostras de polpa com e sem adição de farelo de trigo.

Amostra	Fibra Insolúvel Total % (BS)	Hemicelulose % (BS)	Celulose % (BS)	Cinza Total g cinza/100 g amostra (BS)	Ca	Mg	K	Fe
					mg / 100 g amostra (BS)			
<b>Polpa sem farelo</b>	9,94	2,32	4,18	1,99	46,4	36	488,0	3,8
<b>Polpa com farelo</b>	12,53	5,67	4,44	2,16	57,9	38,3	565	6,3

**ANEXO 4** – Teor de fenóis totais das amostras com diferentes condições de tratamentos térmicos moderados.

Binómio Tratamento	Amostra	Fenóis Totais
Sem TTM	<b>M0</b>	53,33
45 °C/20'/24 h	<b>M1</b>	70,09
<b>50 °C/5'/24 h</b>	<b>M2</b>	76,17
45 °C/20'/12 h	<b>M3</b>	77,79
50 °C/5'/12 h	<b>M4</b>	72,10

**ANEXO 5 – Caracterização química e física das amostras com diferentes tratamentos físicos**

Amostra	mg Ác. Gálhico /100 g produto (BS)	pH	aw	TSS	Humidade (%)	Ácido Ascórbico (mg/100 g produto)(BS)	L*	c*	h°
M1	1989,14	4,01	97,6	13,3	82,72	39,49	38,64±0,69	20,47±0,58	1,29±0.03
M2	572,82	4,12	98,05	14	81,20	0,80	39,81±0,23	20,47±0,57	1,31±0.02
M3	685,23	4,19	99,1	15,2	81,81	1,38	38,35±0,62	20,58±0,49	1,34±0.02
M4	632,30	3,82	99,2	10,05	83,23	1,12	37,51±0,52	18,66±0,58	1,25±0.02
M5	667,64	3,94	97,75	10,25	84,00	-	36,61±1,44	18,54±2,04	1,22±0.02
MB1	750,59	4,02	97,4	14,3	81,10	0,31	38,74±0,28	18,39±0,65	1,15±0.04
MB2	621,05	4,04	98,45	13,4	83,41	1,13	39,79±1,13	20,97±1,09	1,37±0.03
MB3	734,82	4,19	98,65	15,05	82,38	0,95	37,52±0,90	18,48±1,61	1,13±0.02
MB4	860,18	3,98	98,6	12,3	84,27	1,34	37,12±0,46	20,35±0,49	1,29±0.03
MB5	648,89	4,02	98,1	13,7	81,65	-	39,55±0,35	18,78±0,80	1,24±0.04
MT1	2161,47	4,02	97,7	14,2	81,10	0,20	38,64±0,71	17,72±1,61	1,25±0.05
MT2	548,83	4,03	97,95	12,85	80,91	0,90	40,59±0,52	18,61±0,70	1,34±0.03
MT3	368,46	3,94	98,8	14,6	81,53	1,16	38,57±0,89	18,97±1,18	1,30±0.05
MT4	720,19	4,03	98,75	11,55	85,64	1,63	38,90±0,84	19,47±0,72	1,37±0.03
MT5	556,13	3,95	97,9	14,5	83,07		37,52±0,38	20,05±0,67	1,33±0.03
MTB1	1084,51	4,20	97,7	11,9	82,77	4,07	36,88±0,50	18,78±0,53	1,27±0.02
MTB2	525,36	4,2	98,45	12,8	82,10	1,22	35,95±0,66	21,19±0,95	1,33±0.02
MTB3	669,37	3,96	98,55	13,9	82,65	1,01	38,32±0,69	21,66±0,95	1,32±0.03
MTB4	551,40	4,04	99,1	12,85	82,65	1,50	37,91±0,70	21,38±0,67	1,27±0.04
MTB5	681,61	4,05	98,45	14,35	83,03	-	37,93±0,49	19,56±0,59	1,36±0.03

\*(média ± DP)

**ANEXO 6 - Caracterização sensorial das amostras com diferentes tratamentos físicos**

<b>Amostra</b>	<b>Cor</b>	<b>Cor F.V.</b>	<b>Gosto</b>	<b>Doce</b>	<b>Acidez</b>	<b>Ap. Global</b>
M1	4±0.53	2±0.53	4±1.43	3±0.53	2±0.53	3±1.23
M2	3±0.79	2±0.53	4±0.67	3±0.42	1±0.52	3±0.83
M3	4±0.53	2±0.48	4±0.74	3±0.82	2±0.82	3±0.93
M4	4±0.52	1±0.44	5±0.73	3±0.74	2±0.84	4±0.74
M5	4±0.53	1±0.48	5±0.53	3±0.33	1±0.44	3±1.07
MB1	3±0.44	2±0.71	4±0.87	2±0.44	2±0.67	3±0.87
MB2	4±0.79	2±0.67	4±0.88	3±0.48	1±0.33	4±0.83
MB3	3±0.78	2±0.79	4±0.71	3±0.67	2±0.73	3±1.20
MB4	4±0.52	1±0.50	4±0.83	3±0.67	2±0.71	3±0.94
MB5	3±0.82	1±0.52	4±0.93	3±0.73	1±0.44	3±0.71
MT1	3±0.74	1±0.48	4±1.20	3±0.74	2±0.70	4±0.73
MT2	4±1.06	1±0.52	4±0.99	3±0.53	1±0.32	4±0.97
MT3	4±0.79	1±0.53	5±0.53	3±1.07	2±0.67	3±0.92
MT4	4±0.44	1±0.53	4±0.70	3±0.74	2±0.85	4±0.71
MT5	4±0.53	1±0.48	4±0.82	3±0.63	1±0.53	3±0.82
MTB1	3±0.74	2±0.78	3±1.07	2±0.32	2±0.67	3±0.94
MTB2	4±0.00	3±0.50	4±0.74	2±0.67	2±0.84	3±1.03
MTB3	3±0.97	1±0.48	2±0.87	2±0.99	2±1.09	1±0.48
MTB4	4±0.53	1±0.50	4±0.78	3±0.82	1±0.48	3±0.67
MTB5	3±0.82	1±0.52	4±0.87	2±0.35	1±0.44	3±0.48

\*(média ± DP)

**ANEXO 7** – Evolução dos parâmetros L\*, c\* e h° ao longo do tempo das amostras M1, M2 e amostra de controlo.

<b>Amostra</b>	<b>L*(M1)</b>	<b>L*(M2)</b>	<b>L*(controlo)</b>	<b>c* (M1)</b>	<b>c* (M2)</b>	<b>c*(controlo)</b>	<b>h°(M1)</b>	<b>h°(M2)</b>	<b>h°(controlo)</b>
<b>inicial</b>	51,54±0,76	51,19±1,11	49,63±1,26	22,88±1,01	24,99±1,05	23,73±0,86	-0,31±1,61	-0,92±1,31	1,20±0,96
<b>40 min</b>	48,94±0,59	48,21±0,55	42,19±1,25	22,02±0,55	23,91±0,97	26,57±1,56	-0,01±1,63	0,31±1,60	1,39±0,05
<b>70 min</b>	48,37±0,59	47,49±0,69	41,50±0,89	21,22±0,89	23,41±0,89	27,04±1,01	0,31±1,61	0,00±1,65	1,40±0,03
<b>48 horas</b>	47,02±0,66	46,17±0,98	35,55±0,99	19,08±0,89	21,68±0,68	20,56±2,10	1,50±0,03	1,50±0,03	1,19±0,05
<b>9 dias</b>	46,68±0,83	46,29±0,91	34,82±0,89	19,74±0,61	22,99±0,75	19,81±1,49	1,50±0,02	1,49±0,04	1,19±0,04

\*(média ± DP)



**ANEXO 8**– Ficha de avaliação das polpas de fruta no âmbito do delineamento conducente à formulação

**Polpa de Fruta à base Maçã, Adicionada de Amora, Limão e Farelo**

Data: \_\_/\_\_/\_\_ Amostra \_\_\_\_ Nome: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_

Após provar a amostra marque uma cruz no ponto que melhor traduzir a intensidade da sensação de cada um dos atributos

COR	
Muito clara	
Clara	
Moderada	
Escura	
Muito escura	

COR FRUTOS VERMELHOS	
Ausente	
Ligeira	
Moderada	
Intensa	
Excessiva	

GOSTO A MAÇÃ	
Ausente	
Muito Ligeiro	
Ligeiro	
Moderado	
Característico	

ACIDEZ	
Nada ácido	
Pouco ácido	
Moderadamente ácido	
Muito ácido	
Excessivamente ácido	

DOCE	
Nada doce	
Pouco doce	
Moderadamente doce	
Muito doce	
Excessivamente doce	

AREADO	
Ausente	
Pouco	
Moderado	
Muito	
Excessivo	

APRECIÇÃO GLOBAL	
Não gosto nada	
Gosto pouco	
Gosto moderadamente	
Gosto	
Gosto muito	

INTENÇÃO DE COMPRA	
Não compraria	
Provavelmente não compraria	
Talvez comprasse	
Provavelmente compraria	
Compraria	

**ANEXO 9** - Ficha de avaliação das polpas de fruta no âmbito do desenvolvimento das polpas com integração de diferentes tratamentos físicos

**Polpa de Fruta à Base de Maçã Adicionada de Amora, Limão, Ananás e Farelo**

Data: \_\_/\_\_/\_\_ Amostra \_\_\_\_\_ Nome: \_\_\_\_\_  
Idade: \_\_\_\_\_

Após provar a amostra marque uma cruz no ponto que melhor traduzir a intensidade da sensação de cada um dos atributos

COR GERAL	
Muito clara	
Clara	
Moderada	
Escura	
Muito escura	

COR FRUTOS VERMELHOS	
Ausente	
Ligeira	
Moderada	
Intensa	
Excessiva	

GOSTO A MAÇÃ	
Ausente	
Muito Ligeiro	
Ligeiro	
Moderado	
Característico	

DOCE	
Nada doce	
Pouco doce	
Moderadamente doce	
Muito doce	
Excessivamente doce	

ACIDEZ	
Nada ácido	
Pouco ácido	
Moderadamente ácido	
Muito ácido	
Excessivamente ácido	

APRECIAÇÃO GLOBAL	
Não gosto nada	
Gosto pouco	
Gosto moderadamente	
Gosto	
Gosto muito	

**Observações:** \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**Muito obrigada pela colaboração!**